

VORKOMMEN UND VERBREITUNG
VON CAMPYLOBACTER JEJUNI/COLI IN DER
JUNGMASTGEFLÜGEL - PRODUKTION

MARGRET ALTMAYER

Diss
München
1905

Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Tiergesundheitsdienst Bayern
Fachabteilung Geflügelgesundheitsdienst
Leitung: Professor Dr. P. Dorn

vorgelegt über:
Institut für Geflügelkrankheiten
der Ludwig-Maximilians-Universität München
Vorstand: Professor Dr. J. Kösters

VORKOMMEN UND VERBREITUNG VON
CAMPYLOBACTER JEJUNI/COLI IN DER
JUNGMASTGEFLÜGEL - PRODUKTION

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

von

Margret Altmeyer

aus

Lebach / Saarland

München 1985

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. W. Leidl
Referent: Prof. Dr. J. Kösters
Korreferent: Priv. Doz. Dr. Dr. habil. Ch. Ring

Tag der Promotion: 26. Juli 1985

1	Einleitung	1
2	1.1.1. Zielsetzung	2
3	1.1.2. Methodik	3
4	1.1.3. Ergebnisse	4
5	1.1.4. Diskussion	5
6	1.1.5. Zusammenfassung	6
7	1.1.6. Literaturverzeichnis	7
8	1.1.7. Anhang	8
9	1.1.8. Bibliographie	9
10	1.1.9. Glossar	10
11	1.1.10. Index	11
12	1.1.11. Literaturverzeichnis	12
13	1.1.12. Anhang	13
14	1.1.13. Bibliographie	14
15	1.1.14. Glossar	15
16	1.1.15. Index	16
17	1.1.16. Literaturverzeichnis	17
18	1.1.17. Anhang	18
19	1.1.18. Bibliographie	19
20	1.1.19. Glossar	20
21	1.1.20. Index	21
22	1.1.21. Literaturverzeichnis	22
23	1.1.22. Anhang	23
24	1.1.23. Bibliographie	24
25	1.1.24. Glossar	25
26	1.1.25. Index	26
27	1.1.26. Literaturverzeichnis	27
28	1.1.27. Anhang	28
29	1.1.28. Bibliographie	29
30	1.1.29. Glossar	30
31	1.1.30. Index	31
32	1.1.31. Literaturverzeichnis	32
33	1.1.32. Anhang	33
34	1.1.33. Bibliographie	34
35	1.1.34. Glossar	35
36	1.1.35. Index	36
37	1.1.36. Literaturverzeichnis	37
38	1.1.37. Anhang	38
39	1.1.38. Bibliographie	39
40	1.1.39. Glossar	40
41	1.1.40. Index	41
42	1.1.41. Literaturverzeichnis	42
43	1.1.42. Anhang	43
44	1.1.43. Bibliographie	44
45	1.1.44. Glossar	45
46	1.1.45. Index	46
47	1.1.46. Literaturverzeichnis	47
48	1.1.47. Anhang	48
49	1.1.48. Bibliographie	49
50	1.1.49. Glossar	50
51	1.1.50. Index	51
52	1.1.51. Literaturverzeichnis	52
53	1.1.52. Anhang	53
54	1.1.53. Bibliographie	54
55	1.1.54. Glossar	55
56	1.1.55. Index	56
57	1.1.56. Literaturverzeichnis	57
58	1.1.57. Anhang	58
59	1.1.58. Bibliographie	59
60	1.1.59. Glossar	60
61	1.1.60. Index	61
62	1.1.61. Literaturverzeichnis	62
63	1.1.62. Anhang	63
64	1.1.63. Bibliographie	64
65	1.1.64. Glossar	65
66	1.1.65. Index	66
67	1.1.66. Literaturverzeichnis	67
68	1.1.67. Anhang	68
69	1.1.68. Bibliographie	69
70	1.1.69. Glossar	70
71	1.1.70. Index	71
72	1.1.71. Literaturverzeichnis	72
73	1.1.72. Anhang	73
74	1.1.73. Bibliographie	74
75	1.1.74. Glossar	75
76	1.1.75. Index	76
77	1.1.76. Literaturverzeichnis	77
78	1.1.77. Anhang	78
79	1.1.78. Bibliographie	79
80	1.1.79. Glossar	80
81	1.1.80. Index	81
82	1.1.81. Literaturverzeichnis	82
83	1.1.82. Anhang	83
84	1.1.83. Bibliographie	84
85	1.1.84. Glossar	85
86	1.1.85. Index	86
87	1.1.86. Literaturverzeichnis	87
88	1.1.87. Anhang	88
89	1.1.88. Bibliographie	89
90	1.1.89. Glossar	90
91	1.1.90. Index	91
92	1.1.91. Literaturverzeichnis	92
93	1.1.92. Anhang	93
94	1.1.93. Bibliographie	94
95	1.1.94. Glossar	95
96	1.1.95. Index	96
97	1.1.96. Literaturverzeichnis	97
98	1.1.97. Anhang	98
99	1.1.98. Bibliographie	99
100	1.1.99. Glossar	100
101	1.1.100. Index	101

Meinen Eltern

1	1.1.1. Zielsetzung	1
2	1.1.2. Methodik	2
3	1.1.3. Ergebnisse	3
4	1.1.4. Diskussion	4
5	1.1.5. Zusammenfassung	5
6	1.1.6. Literaturverzeichnis	6
7	1.1.7. Anhang	7
8	1.1.8. Bibliographie	8
9	1.1.9. Glossar	9
10	1.1.10. Index	10
11	1.1.11. Literaturverzeichnis	11
12	1.1.12. Anhang	12
13	1.1.13. Bibliographie	13
14	1.1.14. Glossar	14
15	1.1.15. Index	15
16	1.1.16. Literaturverzeichnis	16
17	1.1.17. Anhang	17
18	1.1.18. Bibliographie	18
19	1.1.19. Glossar	19
20	1.1.20. Index	20
21	1.1.21. Literaturverzeichnis	21
22	1.1.22. Anhang	22
23	1.1.23. Bibliographie	23
24	1.1.24. Glossar	24
25	1.1.25. Index	25
26	1.1.26. Literaturverzeichnis	26
27	1.1.27. Anhang	27
28	1.1.28. Bibliographie	28
29	1.1.29. Glossar	29
30	1.1.30. Index	30
31	1.1.31. Literaturverzeichnis	31
32	1.1.32. Anhang	32
33	1.1.33. Bibliographie	33
34	1.1.34. Glossar	34
35	1.1.35. Index	35
36	1.1.36. Literaturverzeichnis	36
37	1.1.37. Anhang	37
38	1.1.38. Bibliographie	38
39	1.1.39. Glossar	39
40	1.1.40. Index	40
41	1.1.41. Literaturverzeichnis	41
42	1.1.42. Anhang	42
43	1.1.43. Bibliographie	43
44	1.1.44. Glossar	44
45	1.1.45. Index	45
46	1.1.46. Literaturverzeichnis	46
47	1.1.47. Anhang	47
48	1.1.48. Bibliographie	48
49	1.1.49. Glossar	49
50	1.1.50. Index	50
51	1.1.51. Literaturverzeichnis	51
52	1.1.52. Anhang	52
53	1.1.53. Bibliographie	53
54	1.1.54. Glossar	54
55	1.1.55. Index	55
56	1.1.56. Literaturverzeichnis	56
57	1.1.57. Anhang	57
58	1.1.58. Bibliographie	58
59	1.1.59. Glossar	59
60	1.1.60. Index	60
61	1.1.61. Literaturverzeichnis	61
62	1.1.62. Anhang	62
63	1.1.63. Bibliographie	63
64	1.1.64. Glossar	64
65	1.1.65. Index	65
66	1.1.66. Literaturverzeichnis	66
67	1.1.67. Anhang	67
68	1.1.68. Bibliographie	68
69	1.1.69. Glossar	69
70	1.1.70. Index	70
71	1.1.71. Literaturverzeichnis	71
72	1.1.72. Anhang	72
73	1.1.73. Bibliographie	73
74	1.1.74. Glossar	74
75	1.1.75. Index	75
76	1.1.76. Literaturverzeichnis	76
77	1.1.77. Anhang	77
78	1.1.78. Bibliographie	78
79	1.1.79. Glossar	79
80	1.1.80. Index	80
81	1.1.81. Literaturverzeichnis	81
82	1.1.82. Anhang	82
83	1.1.83. Bibliographie	83
84	1.1.84. Glossar	84
85	1.1.85. Index	85
86	1.1.86. Literaturverzeichnis	86
87	1.1.87. Anhang	87
88	1.1.88. Bibliographie	88
89	1.1.89. Glossar	89
90	1.1.90. Index	90
91	1.1.91. Literaturverzeichnis	91
92	1.1.92. Anhang	92
93	1.1.93. Bibliographie	93
94	1.1.94. Glossar	94
95	1.1.95. Index	95
96	1.1.96. Literaturverzeichnis	96
97	1.1.97. Anhang	97
98	1.1.98. Bibliographie	98
99	1.1.99. Glossar	99
100	1.1.100. Index	100

Inhaltsverzeichnis

Seite

1.	Einleitung	1
2.	Literatur	2
2.1	Geschichtlicher Überblick	2
2.2	Vorkommen beim Menschen	3
2.3	Vorkommen beim Tier	4
2.3.1	Schwein und Rind	4
2.3.2	Geflügel	4
2.3.2.1	Qualitatives und quantitatives Vorkommen von Campylobacter jejuni/coli im Darminhalt von Jungmastgeflügel (Broiler)	5
2.3.2.2	Qualitatives und quantitatives Vorkommen von Campylobacter jejuni/coli in Lebern von Jung- mastgeflügel (Broiler)	5
2.3.2.3	Qualitatives und quantitatives Vorkommen von Campylobacter jejuni/coli auf der Oberfläche von Schlachttierkörpern (Broiler)	6
2.3.2.4	Untersuchungen bei Eiern und Küken bis zum 14. Lebenstag	6
2.3.2.5	Untersuchungen von Broilerherden auf Campylo- bacter jejuni/coli	7
2.3.2.6	Einfluß der Tiefkühlagerung auf das Vorkommen von Campylobacter jejuni/coli beim Schlachtgeflügel	7
2.3.2.7	Infektionsversuche	8
2.4	Bakteriologische Technik	8
2.4.1	Isolierungsbedingungen	8
2.4.2	Diagnose	11
2.5	Nomenklatur	12
2.6	Resistenzverhalten	13
2.7	Immunofluoreszenz	13

3.	Eigene Untersuchungen - Material und Methoden	15
3.1	Bakteriologische Technik	15
3.1.1	Kulturelle Untersuchung	15
3.1.1.1	Nährböden	15
3.1.1.2	Isolierungsbedingungen	17
3.1.1.3	Koloniemorphologie	18
3.1.2	Mikroskopische Untersuchung	18
3.1.2.1	Nativpräparat	18
3.1.2.2	Gefärbtes Präparat	19
3.1.3	Gattungs- und Artbestimmung	19
3.1.3.1	Oxidasetest	19
3.1.3.2	Katalasetest	19
3.1.3.3	Hippuratspaltung	19
3.1.3.4	H ₂ S - bildung	20
3.1.3.5	Verhalten gegenüber Nalidixinsäure	20
3.1.4	Überprüfung des Resistenzverhaltens	20
3.1.5	Immunofluoreszenz	23
3.2	Histologische Untersuchung	24
3.3	Untersuchungsmaterial und Bearbeitungstechnik	25
3.3.1	Brütereier - Eintagsküken	25
3.3.1.1	Mekoniumproben	25
3.3.2	Mastbetriebe	25
3.3.2.1	Transportkisten-Tupfer	25
3.3.2.2	Kloakentupfer	26
3.3.3	Geflügel-Schlachtereier	26
3.3.3.1	Blinddärme	26
3.3.3.2	Hautproben	27
3.3.3.3	Muskulatur	28

	Seite
3.3.3.4	Lebern 28
3.3.3.5	Dünndärme 29
3.3.3.6	Spinchillerwasser 29
3.3.3.7	Brühkesselwasser 29
3.3.3.8	Auftauwasser 29
3.3.4	Sektionsmaterial - Blinddärme 30
3.3.5	Infektionsversuche 30
4.	Untersuchungsergebnisse 33
4.1	Nährböden - Isolierungsbedingungen 33
4.2	Koloniemorphologie - mikroskopisches Bild 38
4.3	Gattungs- und Artbestimmung 38
4.4	Resistenzverhalten 40
4.5	Immunofluoreszenz 41
4.6	Verfolgsuntersuchungen 42
4.7	Quantitative Untersuchung von Blinddärmen und Hautproben 51
4.8	Der Einfluß der Tiefkühlagerung auf Campylo- bacter jejuni/coli 54
4.9	Untersuchung von Blinddärmen zur Erfassung der Campylobacter jejuni/coli Verbreitung bei Broilern 57
4.10	Infektionsversuche 59
4.11	Histologie der Versuchstiere 64
5.	Diskussion 65
6.	Zusammenfassung 73
	Summary
	Resumen
7.	Literaturverzeichnis 79

1. Einleitung

Heute gilt die pathogene Bedeutung von *Campylobacter jejuni/coli* für den Menschen, insbesondere im Zusammenhang mit enteritischen Krankheitserscheinungen, als gesichert. Insoweit werden epidemiologische Zusammenhänge zwischen Erkrankungen beim Menschen und kontaminierten Lebensmitteln, wie unpasteurisierte Milch und Fleischprodukte, gesehen.

Geflügelprodukte werden besonders häufig als Ursache von gastroenteritischen Erkrankungen beim Menschen genannt.

Aufgabe dieser Arbeit war es, Vorkommen von *Campylobacter jejuni/coli* in der bayerischen Jungmastgeflügel - Produktion (Broiler - Produktion) zu untersuchen. Dabei sollte die Ausbreitungstendenz von *Campylobacter jejuni/coli* in den Mastbeständen und zusätzlich die Verbreitung während des Schlachtvorganges aufgezeigt werden. Ein weiteres Ziel dieser Arbeit war, in Infektionsversuchen klinische Erscheinungen und Infektionsverbreitung zu untersuchen. Außerdem sollten *Campylobacter* - Isolate bis zur Species differenziert und ergänzend auf ihre Empfindlichkeit gegenüber Chemotherapeutika geprüft werden.

2. Literatur

2.1 Geschichtlicher Überblick

1913 isolierten Mc Fadyean und Stockman zum ersten Mal *Vibrio* - ähnliche Organismen aus Lochialflüssigkeit von Schafen, die abortiert hatten. 1918 bestätigte Smith diesen Befund durch die Isolierung des Keimes aus Abortmaterial vom Rind. 1919 ordneten Smith und Taylor den oben isolierten Organismus dem Genus "*Vibrio*" als Spezies zu und prägten hierfür den Namen "*V. fetus*". Im Laufe der Jahre wurden Vibrionen in der Veterinärmedizin bei verschiedenen Tierarten für verschiedene Krankheitsbilder verantwortlich gemacht. So isolierten Smith und Orcutt (1927) und Jones et al. (1931) Vibrionen aus dem Darm an Durchfall erkrankter Kälber. Jones et al. konnten durch Verfütterung des Erregers an gesunde Rinder eine Enteritis hervorrufen. Sie beobachteten eine Verdickung der Mucosa im Bereich des Jejunums bei diesen erkrankten Rindern und schlugen für den Keim den Namen "*V. jejuni*" vor.

Doyle isolierte 1944 bei einem Schwein, welches an Dysenterie erkrankt war, mikroaerophile Vibrionen aus der Colonmucosa. Die Verfütterung des Keimes ergab bei sechs von acht Schweinen Diarrhoe. Doyle nannte diesen Keim "*V. coli*". Hofstad et al. (1956) und Peckham (1958) beschrieben Vibrionen als Ursache einer infektiösen Hepatitis beim Geflügel.

Nachdem den Untersuchungen in der Veterinärmedizin in den vierziger Jahren Untersuchungen bei Menschen folgten, gab King (1957) erste Hinweise, daß zwischen den bisher einheitlich aufgefaßten Stämmen der Spezies "*V. fetus*" wesentliche Unterschiede bestehen. Er isolierte aus Blut von Menschen zwei bezüglich der Wachstumsoptima unterschiedliche Gruppen von Vibrionen. Von 11 Stämmen bezeichnete er sieben mit "*V. fetus*" und vier mit "related vibrios", die er in Zusammenhang mit der vorliegenden Enteritis brachte. Die Gruppe dieser "related vibrios" zeigte bei 25°C kein Wachstum. Sie zeigte sich als thermophil und hatte ihr Wachstumsoptimum bei 42°C. Es handelte sich um die heute bekannte Spezies *C. jejuni/coli*.

Den Namen "Campylobacter" (griech.: gekrümmtes Stäbchen) prägten Seibald und Véron (1963), da sie wesentliche Unterschiede dieser zu den klassischen Cholera - Vibrionen bezüglich Wachstumsverhalten, biochemischer Eigenschaften und Antigenstruktur sahen.

2.2 Vorkommen bei Menschen

Die erste Infektion beim Menschen durch mikroaerophile Vibrionen beschrieb Levy 1946. Er fand in 31 von 73 untersuchten Stuhlproben bei Menschen mit Durchfall Vibrio - ähnliche Mikroorganismen, die jedoch vor der endgültigen Identifizierung abstarben. Von Vincent et al. (1947) gibt es einen gesicherten Nachweis von "V. fetus" im Blut und Placenta einer Patientin, die abortierte.

In den letzten Jahren häuften sich die Berichte über menschliche Enteritiden durch Campylobacter jejuni/coli.

Unter anderem berichteten Robinson et al. 1979, Blaser et al. 1979, Porter und Reid 1980, Mc Naughton et al. 1982 über Erkrankungen beim Menschen, die auf kontaminierte Rohmilch zurückzuführen waren.

Über Campylobacter jejuni/coli - kontaminiertes Fleisch als Ursache von menschlichen Enteritiden berichteten Peel und McIntosh 1978, Yanagisawa 1980 und Oosterom et al. 1980.

Untersuchungen im Zusammenhang mit Gastroenteritiden beim Menschen durch Campylobacter - kontaminiertes Geflügel existieren seit 1977 (Skirrow 1977; Skirrow et al. 1981; Hayer und Cruickshank 1977; Brouwer et al. 1979; Severin 1978; Doyle 1981; Holl et al. 1982; Blaser 1982; Mouton et al. 1982).

In der Bundesrepublik Deutschland wurde der erste Krankheitsfall, verursacht durch Campylobacter jejuni/coli, von Sticht-Groh und Rohland 1979 beschrieben.

Inzwischen steht die humanpathogene Bedeutung von *Campylobacter jejuni/coli* als Erreger sporadischer und epidemischer Durchfallerkrankungen fest (Horbach 1983).

2.3 Vorkommen beim Tier

Zahlreiche Untersuchungen zum Vorkommen von *Campylobacter jejuni/coli* wurden bei verschiedenen Haustieren durchgeführt.

2.3.1 Schwein und Rind

Beim Schwein kam es zu hohen Nachweisraten. Sticht-Groh (1982), Oosterom et al. (1980) und Teufel (1982) fanden im Durchschnitt bei ca. 60% gesunder Schlachtschweine in den Faecesproben *C. jejuni/coli*. Rosef (1981) untersuchte 50 Gallenblasen von Schlachtschweinen und konnte in 58% davon den Keim isolieren. Görgen, Kirpal und Bisping (1983) untersuchten das Vorkommen bei gesunden und darmerkrankten Schweinen verschiedener Altersklassen. Die Nachweisrate aus Kotproben gesunder Schweine lag bei 80,5% und bei Schweinen mit Diarrhoe bei 66,2%.

Die Nachweisraten bei Rindern liegen niedriger. Weber, Bergmann und Bauer (1984) wiesen in 9,5% von 262 klinisch gesunden Kälbern, bzw. Schlachtkälbern *C. jejuni/coli* nach; in Kotproben bei Kälbern mit Durchfall fanden sie 12,9% *C. jejuni/coli*.

2.3.2 Geflügel

Zahlreiche Untersuchungen zum Vorkommen von *C. jejuni/coli* wurden beim Geflügel durchgeführt.

2.3.2.1 Qualitatives und quantitatives Vorkommen von C. jejuni/coli im Darminhalt von Jungmastgeflügel (Broiler)

Zur Frage der Kontamination gesunder Broiler mit C. jejuni/coli isolierten Bruce et al. (1977), Ribeiro (1978) und Wempe et al. (1983) aus 60% - 100% der Blinddärme und Goren und de Jong (1980) bei 28,6% der Dünndärme den Keim. Grant und Richardson (1980) wiesen bei 83% der Broiler im Rectum C. jejuni/coli nach. Shanker et al. (1982) konnten aus 134 von 327 (41%) Kloakenproben den Keim nachweisen. Munroe und Prescott (1983) isolierten in 27,1% von 398 untersuchten Kotproben C. jejuni/coli, Marjai et al. (1982) fanden bei 84%; Levi und Riccardi (1982) bei 64% der untersuchten Kotproben den Keim.

Oosterom et al. (1983a) führten differenzierte Untersuchungen von 25 Tieren im Duodenum, Ileum, Caecum und Colon durch. Sie isolierten im Duodenum bei 17 von 25 Tieren, im Ileum bei 21 von 25 Tieren, im Caecum bei 23 von 25 Tieren und im Colon bei 20 von 25 Tieren den Erreger.

Bei quantitativen Untersuchungen des Darminhaltes gaben die Autoren im Ileum ein Mittel von $10^{5,26}/g$ an, im Caecum dagegen $10^{4,11}/g$. Grant und Richardson (1980) geben bei ihren quantitativen Untersuchungen des Rectuminhalts ein Mittel von $4,4 \times 10^6/g$ Kot an.

2.3.2.2 Qualitatives und quantitatives Vorkommen von C. jejuni/coli in Lebern von Jungmastgeflügel (Broiler)

Aus Lebern ermittelten Barot et al. 1983 von 117 untersuchten Lebern 56 mit C. jejuni/coli kontaminiert. Sie gingen, da ihre Isolierungsrate hauptsächlich auf Untersuchungen der Leberoberfläche basierte, von einer Schlachtereikontamination aus. Hartog, Severin und de Boer (1981) isolierten aus 67% der untersuchten Lebern C. jejuni/coli. Oosterom et al. (1983a) gaben eine Nachweisrate von 75% an. Hartog, Severin und de Boer (1981) führten neben den qualitativen auch quantitative Untersuchungen bei

frischen Lebern durch. Außerdem untersuchten sie den Einfluß der Tiefkühlagerung auf das quantitative und qualitative Vorkommen von *C. jejuni/coli* in Lebern. Bei 67% positiven Befunden an frischen Lebern fanden sie jeweils 10^2 - 10^4 Keime/g. Bei tiefgefrorenen Lebern isolierten die Autoren nur noch aus insgesamt 2% der untersuchten Lebern *C. jejuni/coli* in einer Keimzahl von 10^2 - 10^3 /g.

2.3.2.3 Qualitatives und quantitatives Vorkommen von *C. jejuni/coli* auf der Oberfläche von Schlachttierkörpern (Broiler)

Angaben über das Vorkommen von *C. jejuni/coli* auf Oberflächen von frisch geschlachteten Broilern sind sehr unterschiedlich. So konnten Goren und de Jong 1980 bei 750 Schlachtkörpern von Broilern aus 13 Betrieben auf der Haut bzw. Peritoneum keine *C. jejuni/coli* isolieren. Smeltzer (1981) dagegen fand in 94% der untersuchten Schlachttierkörper *C. jejuni/coli*. Bei verschiedenen Autoren wurde *C. jejuni/coli* auf der Oberfläche von Schlachttierkörpern zwischen 49% und 74% nachgewiesen (Oosterom et al. 1983a; Bruce et al. 1977; Wempe et al. 1983; Shanker et al. 1982; Park et al. 1983 und Marjai et al. 1982). Oosterom et al. führten 1983 quantitative Kloakenhautuntersuchungen durch. Sie ermittelten zwischen 10^2 und 10^3 Keimen/g Kloakenhaut. Shanker et al. (1982) bezogen ihre quantitativen Untersuchungen auf den gesamten Schlachttierkörper und geben ein Mittel von $8,6 \times 10^4$ Keimen/Tierkörper an.

2.3.2.4 Untersuchungen bei Eiern und bei Küken bis zum 14. Lebenstag

Untersuchungen bei Eintagsküken und Küken im Alter unter 14 Tagen ergaben bei Acuff et al. (1982) im Rahmen von Untersuchungen bei Trutzhühnern und bei Neill et al. (1984) im Rahmen von Untersuchungen bei Broilern negative Ergebnisse. Beide Autoren sprechen vom Anstieg der Kontamination ab dem 15. Tag. Auch Smitherman et al. (1984), die Kloakenproben von sechs Broilerherden in wöchentlichem Abstand untersuchten,

hatten die ersten *C. jejuni/coli* positiven Ergebnisse in einer Herde mit Küken im Alter von 12 Tagen. Doyle (1984) konnte bei 226 Eiern von *C. jejuni/coli* ausscheidenden Legehennen keinen dieser Keime im Einhalt nachweisen. Nur von der Oberfläche von zwei Eiern isolierte er *C. jejuni/coli*.

2.3.2.5 Untersuchungen von Broilerherden auf *C. jejuni/coli*

Von 89 Broilerherden erwiesen sich bei Goren und de Jong (1980) 41,6% als *Campylobacter jejuni/coli* positiv, Neill et al. (1984) ermittelte von 12 untersuchten Herden neun als positiv, bei Shanker et al. (1982) waren drei von vier Broilerherden *C. jejuni/coli* kontaminiert. Über "Campylobacter - freie" Herden berichteten Hartog et al. (1983); Shanker et al. (1983) und Neill et al. (1984).

2.3.2.6 Einfluß der Tiefkühlagerung auf das Vorkommen von *C. jejuni/coli* beim Schlachtgeflügel

Der Einfluß des Gefrierens und der Kühlagerung auf *Campylobacter jejuni/coli* wurde von verschiedenen Autoren untersucht. Luechtefeld et al. (1981) stellten fest, daß schon nach 24 stündiger Lagerung bei -20°C 16 von 20 ursprünglich positiven Blinddärmen keine *Campylobacter* Keime enthielten. Die quantitative Untersuchung der vier noch positiven Blinddärme ergab eine um drei bis vier Zehnerpotenzen reduzierte Keimzahl pro Gramm Kot. Hanninen (1981) untersuchte Broilerschlachtkörper und stellte nach 12 wöchiger Lagerung bei -20°C eine Reduzierung der Keimzahl um eine halbe bis zwei Zehnerpotenzen fest.

Auf die Untersuchungen von Hartog et al. (1981) zur quantitativen und qualitativen Reduzierung der Keime in der Leber durch Tiefkühlagerung wurde unter 2.3.2.2 hingewiesen.

Oosterom et al. (1983b) untersuchten Kloakenhaut und Lebern vor und nach der Gefrierung bei -45°C und anschließender Lagerung bei -20°C und stell-

ten eine Reduktion fest. Von vorher drei *C. jejuni/coli* positiven Lebern und drei positiven Hautstücken war nach der Gefrierlagerung nur noch jeweils eine Probe positiv. Bei Untersuchungen von 800 frischen und tiefgefrorenen Fleisch- und Geflügelproben erwies sich die Isolationsrate von frischen Untersuchungsproben mit 12,1% positiver Proben um das Fünffache höher als die Nachweisrate bei tiefgefrorenen Proben (2,3%) (Stern et al. 1984).

2.3.2.7 Infektionsversuche

Wenige Untersuchungen liegen über experimentelle *Campylobacter* - Infektionen vor. Ruiz - Palacios et al. (1981) erreichten mit einer oralen Infektionsdosis von 9×10^7 Keimen bei drei Tage alten Küken bei 22 von 25 Tieren Durchfall. Manninen et al. (1982) dagegen konnten mit 15 verschiedenen *Campylobacter* - Isolaten mit einer oralen Dosis von 10^6 - 10^9 Keimen bei drei Tage alten Küken keine klinischen Erscheinungen oder Todesfälle erzielen. Auch Welkos (1984) erreichte nach oraler Infektion mit *Campylobacter jejuni/coli* bei drei Tage alten Küken keine klinischen Erscheinungen, jedoch die orale Infektion von Eintagsküken bewirkte eine Gastroenteritis, nur zwei der 179 Tiere starben.

2.4 Bakteriologische Technik

2.4.1 Isolierungsbedingungen

Die Isolierungstechniken verbesserten sich in den siebziger Jahren entscheidend. Es wurden Selektivnährböden unter Verwendung von Chemotherapeutika - Kombinationen entwickelt, deren Basismedium immer Blutagar war (Pferde- oder Hammelblut). Skirrow (1977) entwickelte folgendes Antibiotika - Supplement: Vancomycin 10 mg/l, Polymyxin B 2,5 IU/l und Trimethoprim 5 mg/l.

Blaser et al. (1979b) erweiterten das Spektrum der zugesetzten Antibiotika durch Cephalotin (15 mg/l) und Amphotericin B (2 mg/l). Dieses Medium befindet sich als "Campy - BAP" ebenso wie das ursprüngliche Skirrow Medium im Handel (Fa. Oxoid).

Butzler et al. (1973) verwendeten Thioglycolat Agar mit 15% defibriniertem Schafblut und folgenden Antibiotika-Zusätzen: Bacitracin 25 IU/l, Polymyxin-B-Sulfat 10 IU/l, Novobiocin 0,005 mg/l und Actidion 0,05 mg/l.

Dieses Supplement wurde später von Lauwers et al. (1978) - zu dieser Arbeitsgruppe gehörte auch Butzler - dahingehend modifiziert, daß Polymyxin durch Colistin (10 IU/ml) ersetzt und Cephalotin (15 µg/l) ergänzend zugefügt wurde.

Cephalotin wurde dann durch Cephazolin in der gleichen Konzentration zur besseren Unterdrückung von *Pseudomonas* ersetzt (Butzler und Skirrow 1979).

Vergleichende Untersuchungen der oben beschriebenen Medien führten Wang et al. (1980), Patton et al. (1981) und Bolton et al. (1983) durch.

Wang et al. (1980) befanden als beste Methode zur Isolierung von *C. jejuni/coli* den Direktausstrich auf das Medium mit dem Chemotherapeutika - Supplement nach Blaser et al. (1979b), während Patton et al. (1981) die meisten positiven Ergebnisse bei Anwendung eines modifizierten Butzler-Mediums (40 IU Colistin/ml) hatten. Bolton et al. (1983) dagegen erzielten beim Vergleich von fünf verschiedenen Selektivnährböden auf dem Selektivagar nach Butzler die geringste Isolationsrate. Gilchrist et al. (1981) gaben an, daß sich die von Butzler verwendete Antibiotika-Kombination in Abhängigkeit von der Temperatur hemmend auf *C. jejuni/coli* auswirken kann. Einige Autoren berichteten von dem erfolgreichen Einsatz von Transportmedien, um *C. jejuni/coli* im Untersuchungsmaterial vor dem Austrocknen zu bewahren. Luechtefeld et al. (1981), Blaser et al. (1980), Luechtefeld und Wang (1981), Martin et al. (1983) und Horbach (1983) empfehlen für den Versand von *Campylobacter*-Stämmen ein halbfestes

Medium nach Cary und Blair (1964). Luechtefeld et al. (1981) hatten dieses zusammen mit sechs anderen Transportmedien getestet und bevorzugten das Cary-Blair-Medium.

Über die Bedeutung von flüssigen selektiven Anreicherungsmedien zum Nachweis von *C. jejuni/coli* liegen zur Zeit nur wenige Untersuchungen vor. Oosterom et al. (1981 und 1983a) konnten die Isolationsrate aus Untersuchungsmaterialien durch "Thioglycollate broth" mit 7% lysiertem Pferdeblut unter Zusatz einer Antibiotika Kombination steigern. Auch Bokkenheuser und Barot (1983) verwendeten "Thioglycollate broth" mit 5% lysiertem Schafblut und sahen darin einen Vorteil gegenüber dem Direktausstrich der Untersuchungsproben. Bei der Mehrzahl der Untersuchungen, besonders bei großen Untersuchungszahlen und in der Routinediagnostik hat sich der *Campylobacter jejuni/coli* - Nachweis im Direktausstrich bewährt (Hasselbach et al. 1984; Görgen et al. 1983; Bruce et al. 1977; Smeltzer 1981). Bezüglich der Wachstumstemperatur gab King 1957 an, das Wachstumsoptimum liege bei 42°C. Skirrow (1977), Görgen et al. (1983) und Teufel (1982) arbeiteten mit 43°C. Hanninen (1982) berichtete, daß alle Stämme, die die Grundcharakteristik der thermophilen *Campylobacter* besaßen, zwar bei 37°C und 42°C, nicht jedoch bei 25°C wuchsen. Somit gilt heute die Wachstumstemperatur als ein entscheidendes Kriterium für *C. jejuni/coli*.

Bezüglich der Wachstumszeit berichtete King 1957, daß das Wachstum der Kolonien bei einer 72 stündigen Bebrütungszeit besser sei als bei 24 stündiger Bebrütung. Bolton et al. (1983) erzielten nach 48 Stunden höhere Isolationsraten als nach 24 Stunden. Park et al. (1983) gaben eine geringere Isolationsrate bei einer Bebrütungszeit von länger als 48 Stunden an.

Kiggins und Plastringe (1956), Fletcher und Plastringe (1964) ermittelten als optimale Atmosphäre für das Wachstum von *C. jejuni/coli*, bzw. von mikroaerophilen Vibrionen ein Gasgemisch von 5% O₂, 10% CO₂ und 85% N₂.

Die Bebrütung bei diesem Gasgemisch wurde von vielen Autoren angewendet. Blaser und Reller (1981) gaben 5% - 10% O₂ an, Bolton et al. (1983) arbeiteten mit einem Gasgemisch von 10% CO₂, 10% O₂ und 80% N₂. Die Einstellung dieser Gasgemische erfolgte unter anderem im Begasungsbrutschrank (Lander und Gill 1980, Gill et al. 1981), im "Gas-Generating-System" (Simmons 1977; Butzler und Skirrow 1979; Buck et al. 1982) und durch Absaugen eines Teiles der Luft aus einem Anaerobiertopf und Ersatz durch CO₂ und N₂. (Buck et al. 1982; Butzler et al. 1973; Butzler und Skirrow 1979; Skirrow und Benjamin 1980a).

2.4.2 Diagnose

Die Koloniemorphologie ist nach Angaben von Smibert (1974) und Mitscherlich (1981) auf festen Nährböden abhängig vom Gasgemisch, der Feuchtigkeit und der Zusammensetzung des Nährsubstrates. Als wichtigste Parameter zur Absicherung der makroskopischen Koloniediagnose gelten die Morphologie im Nativpräparat, die Katalase- und die Oxidasebildung (Véron und Chatelain 1973; Horbach 1983; Oosterom et al. 1983).

2.5 Nomenklatur

Uneinheitlich ist zur Zeit noch die Nomenklatur des Genus *Campylobacter*. Im Rahmen dieser Arbeit interessierten nur *Campylobacter* - Stämme der "Thermophilen Gruppe".

Die von verschiedenen Autoren vorgenommene unterschiedliche Einteilung dieser Gruppe wird aus nachfolgender Tabelle ersichtlich.

Tabelle 1

Unterschiedliche Einteilung der
"Thermophilen Gruppe" des Genus Campylobacter

Smibert (1974) Véron und Chatelain (1973) Skirrow und Benjamin (1980b)

C. fetus subsp. jejuni	C. jejuni	C. jejuni	Biotyp 1
	C. coli		Biotyp 2
		C. coli	
		NARTC	

Bei den mit NARTC bezeichneten Bakterien handelt es sich um die von Skirrow und Benjamin (1980a) so benannten "Nalidixinsäure - resistenten Thermophilen".

Skirrow und Benjamin (1980b) entwickelten ein einfaches Schema zur Differenzierung dieser bei ihnen beschriebenen Typen. (siehe Tabelle 2).

Tabelle 2

Differenzierung thermophiler Campylobacter Spezies
(nach Skirrow und Benjamin 1980b)

	C. jejuni Biotyp 1	C. jejuni Biotyp 2	C. coli	NARTC
Nalidixinsäure	S	S	S	R
Hippuratspaltung	+	+	-	-
H ₂ S-Bildung	-	+	-	+
				R = resistent S = sensibel

Danach differenzierten Shanker et al. 1982 bei Broilern 82% der Campylobacter-Isolate als Biotyp 1 und 18% als Biotyp 2. C. coli - und NARTC - Stämme fanden sie nicht. Munroe und Prescott (1983) ordneten 108 Broiler-isolate C. jejuni zu, ohne eine weitere Aufteilung in Biotyp 1 und 2 vorzunehmen. Acuff et al. (1982) fanden bei Truthahnprodukten, Wasser und Einstreu nur Biotyp 1. Skirrow und Benjamin (1982) gaben Biotyp 2 als häufigsten Biotyp beim Geflügel an. Bolton et al. (1984) stellten ein Differenzierungsschema von 12 Tests vor. Sie wiesen darauf hin, daß die Biotypisierung mit nur drei bis fünf Tests zur Vergleichbarkeit der von verschiedenen Untersuchergruppen gefundenen Typen nicht ausreicht.

2.6 Resistenzverhalten

Weber et al. (1984) prüften die Antibiotika - Empfindlichkeit von C. jejuni/coli, isoliert aus Schweinekot, im Blättchen - Agardiffusionstest auf Müller-Hinton-Agar. Diese Autoren berichteten über eine hohe Resistenz gegenüber Cephazolin und Vancomycin (90% - 100%). 75% der Stämme waren resistent gegenüber Penicillin, 60% gegenüber Erythromycin, 53% gegenüber Streptomycin, 37% gegenüber Ampicillin, 30% gegenüber Trimethoprim/Sulfamethoxazol und 24% gegenüber Polymyxin B. Als gut wirksam erwiesen sich in vitro Gentamycin, Nitrofurantoin und Nalidixinsäure. Bruce et al. (1977) stellten ebenfalls im Agardiffusionstest bei der Untersuchung von 79 Isolaten vom Menschen und 153 Geflügelisolaten eine Resistenz gegen Trimethoprim und Cephaloridine fest. Gegenüber Erythromycin und Aminoglycosiden erwiesen sich die Isolate als sensibel. Unterschiede waren im Verhalten gegenüber Ampicillin zu erkennen. Die Geflügelisolate waren im Gegensatz zu den Isolaten von Menschen gegenüber diesem Chemotherapeutikum resistent.

2.7 Immunofluoreszenz

Bokkenheuser et al. (1979) und Hebert et al. (1982) verglichen die direkte und indirekte Immunofluoreszenz mit anderen serologischen Verfahren, um

eine Aussage über den diagnostischen Wert bei *C. jejuni/coli* Infektionen zu treffen. Die Autoren kamen zu dem Ergebnis, daß die direkte Immuno-fluoreszenz bessere Resultate ergibt als die indirekte Immunofluoreszenz. Weiterhin stellten sie fest, daß die Fluoreszenztechnik ein gutes Hilfsmittel ist, um *Campylobacter*-Spezies im Probenmaterial direkt nachzuweisen. Ruiz-Palacios et al. (1981) gaben zur Herstellung von Hyperimmunseren ein Immunisierungsschema an.

3. Eigene Untersuchungen - Material und Methoden

3.1 Bakteriologische Technik

3.1.1 Kulturelle Untersuchung

Die wesentlichen technischen Details, aufgegliedert in Nährmedien und Zusätze, Wachstumstemperatur, Bebrütungszeit und Gasgemisch werden im Folgenden beschrieben.

3.1.1.1 Nährböden

Der Nachweis von *Campylobacter jejuni/coli* in den verschiedenen Untersuchungsmaterialien wurde meist kulturell geführt. Zur Anzüchtung dienten feste, halbfeste und flüssige Selektivnährböden.

Das Basismedium für die festen Selektivnährböden hatte folgende Zusammensetzung:

Aqua dest.	1 000,0 ml
Columbia - Agar (Fa. Oxoid)	34,0 g
Defibriniertes Schafblut (Schüttelblut)	50,0 ml

Diesem Grundmedium wurde jeweils zugefügt:

1. Antibiotika - Supplement (Fa. Oxoid) nach Butzler(1973) modifiziert
nach Lauwers et al. (1978):

Bacitracin	12 500 IE/500 ml
Cycloheximid	25 mg/500 ml
Colistin - Sulfat	5 000 IE/500 ml
Na - Cephalozin	7,5 mg/500 ml
Novobiocin	2,5 mg/500 ml

2. Antibiotika - Supplement (Fa. Oxoid) nach Skirrow (1977):

Vancomycin	5 mg/500 ml
Polymyxin B	1 250 IE/500 ml
Trimethoprim	2,5 mg/500 ml

3. Antibiotika - Supplement (Fa. Oxoid) nach Blaser et al. (1979b):

Vancomycin	5 mg/500 ml
Trimethoprim	2,5 mg/500 ml
Polymyxin B	1,25 mg/500 ml
Cephalothin	7,5 mg/500 ml
Amphotericin	1,0 mg/500 ml

4. Zusätzlich stand ein Anreicherungssupplement (Fa. Oxoid) nach George et al. (1978) zur Verfügung:

Na - Pyruvat	0,125 g/500 ml
Na - Metabisulfit	0,125 g/500 ml
Eisen (II) - Sulfat	0,125 g/500 ml

Alle Nährböden wurden à 20 ml in Plastik - Petrischalen mit einem Durchmesser von neun cm ausgegossen, im Kühlschrank aufbewahrt und innerhalb einer Woche verwendet.

Zum Schutz vor Austrocknung bestimmter Untersuchungsmaterialien diente ein halbfestes Transportmedium (Fa. Oxoid) nach Cary und Blair (1964):

Dinatriumhydrogen phosphat	1,1 g/l
Na - thioglycolat	1,5 g/l
Ca - chlorid	5,0 g/l
Na - chlorid	5,0 g/l
Agar	5,6 g/l
pH	8,4

Das Transportmedium wurde à 5,0 ml in verschraubbare Plastikröhrchen abgefüllt und autoklaviert.

Als flüssiges Anreicherungsmedium diente eine Bouillon nach Bokkenheuser und Barot (1984):

Thioglycollate broth (Fa. Oxoid) mit 5% lysiertem Schafblut:

Pepton aus Casein	15,0 g/l
Hefeextrakt	5,0 g/l
D (+) Glucose	5,5 g/l
L (+) - Cystein	0,5 g/l
Na - chlorid	2,5 g/l
Na - thioglycolat	0,5 g/l

Alle beschriebenen Nährböden wurden in Vorversuchen vergleichend auf ihre Effektivität hinsichtlich des Nachweises von *C. jejuni/coli* aus den vorgesehenen Untersuchungsmaterialien überprüft. Dazu wurden 52 Blinddärme aus dem unter Punkt 3.3.4 beschriebenen Untersuchungsmaterialien auf das Vorhandensein von *C. jejuni/coli* parallel auf drei verschiedenen Selektivnährböden untersucht.

Der Effekt einer Anreicherungsbouillon wurde bei der Untersuchung von 90 Muskelproben geschlachteter Tiere einer experimentell im Alter von drei Tagen mit hohen Dosen infizierten Broilergruppen überprüft (Infektionsversuch 2).

Mit vier *C. jejuni/coli* Isolaten wurden die Überlebensbedingungen mit und ohne Transportmedium nach Cary und Blair (1964) überprüft. Dazu wurden diese Stämme als Reinkulturen und vermischt mit Geflügelkot gelagert. Nach Lagerung von zwei, fünf und sieben Tagen sowohl bei 20°C als auch bei 4°C erfolgte die Rückisolierung.

3.1.1.2 Isolierungsbedingungen

Die Bebrütung der Nährböden erfolgte in einer Atmosphäre von 10% CO₂, 10 % O₂ und 80% N₂ bei 43°C über mindestens 48 Stunden in einem Gasbrutschrank.

In Vorversuchen wurden die optimale Gaszusammensetzung und Temperatur für das Wachstum von *C. jejuni/coli* ermittelt. Dazu wurden 52 Blinddärme parallel im "Gas - Generating - System" mit Katalysator (Fa. Oxoid) mit einem Gasgemisch von 5% O₂, 10% CO₂ und 85% N₂ und im Begasungsbrutschrank mit einem Gasgemisch von 10% O₂, 10% CO₂ und 80% N₂ untersucht. Außerdem wurde an einer weiteren Untersuchung von 39 Blinddärmen der Einfluß der Gaszusammensetzung und der Temperatur auf das Wachstum von *C. jejuni/coli* geprüft.

Die günstigsten Lagerungsbedingungen für eine notwendige Stammhaltung wurden in einer Untersuchung mit zehn *C. jejuni/coli* - Isolaten ermittelt. Dazu wurden die Stämme auf Plattenkulturen bei 20°C und bei 4°C - Lagerung auf ihre Überlebensfähigkeit überprüft.

In einer weiteren Vorstudie wurden zehn *C. jejuni/coli* positive Blinddärme nach neun und 20 Tagen Lagerung bei 4°C quantitativ auf den Gehalt an *C. jejuni/coli* untersucht.

3.1.1.3 Koloniemorphologie

Nach frühestens 48 Stunden Bebrütung erfolgte die makroskopische Beurteilung der Plattenkulturen. Die *Campylobacter*-verdächtigen Kolonien wurden entweder von der Primärkultur mit mikroskopischen und biochemischen Verfahren identifiziert oder auf einen weiteren Festnährboden subkultiviert.

3.1.2 Mikroskopische Untersuchung

3.1.2.1 Nativpräparat

Campylobacter-verdächtige Kolonien wurden im Nativpräparat auf ihre Beweglichkeit überprüft. Im Deckglaspräparat ließ sich im Licht- und Phasenkontrastmikroskop bei 1 000 facher Vergrößerung mit Ölimmersion das charakteristische Bewegungsverhalten von *Campylobacter* gut erkennen. Bei diesen

Untersuchungen wurde bei Einzelansätzen jede, bei Massensansätzen jede fünfte koloniemorphologisch positive Probe im Nativpräparat bestätigt.

3.1.2.2 Gefärbtes Präparat

In Einzelfällen wurden Campylobacter-fragliche Keime nach Gram gefärbt und das mikroskopische Ergebnis zur Diagnosestellung hinzugezogen.

3.1.3 Gattungs- und Artbestimmung

3.1.3.1 Oxydasebildung

Der Oxydasetest wurde mittels N,N-Dimethyl-1,4 phenylen-diammonium-dichlorid (Fa. Merck) durchgeführt:

Zwei bis drei Tropfen einer 1% wäßrigen Lösung von oben genanntem Testreagenz wurden auf einen Filtrierpapierstreifen aufgetropft und Material von der fraglichen Kolonie mit einer Platinöse strichförmig aufgetragen. Rotfärbung innerhalb zwei Minuten wurde als positiv bewertet.

3.1.3.2 Katalasetest

Das Katalasebildungsvermögen wurde mittels einer 3%-igen H_2O_2 -Lösung auf dem Objektträger überprüft. Fragliche Kolonien wurden in einen Tropfen H_2O_2 -Lösung eingegeben, massive Bläschenbildung wurde als positiv bewertet.

3.1.3.3 Hippuratspaltung

Zur Prüfung der Hippuratspaltung (Hasselbach u. al. 1988) wurde 0,4 ml einer 1% wäßrigen Lösung von Natriumhippurat (Fa. Merck) in sterilen Glasröhrchen mit einer Öse Koloniematerial beimpft und für zwei Stunden im Wasser-

bad bei 37°C bebrütet. Anschließend erfolgte die Zugabe von 0,2 ml Ninhydrinlösung (3,5% Ninhydrin in einer 1:1 Mischung aus Aceton und n-Butanol) und nochmaliges Verbringen in das Wasserbad für 10 Minuten. Eine Blaufärbung war als positives Ergebnis anzusehen.

Vergleichend wurde die Hippuratspaltung in einem käuflichen Testsystem durchgeführt (Api 20 Strep, Fa. api bioMérieux).

3.1.3.4 H₂S-Bildung

Zur Feststellung der H₂S-bildung wurden Bleiazetatstreifen (Fa. Merck) in 0,025%-iger Cysteinbouillon eingesetzt (Hasselbach et al. 1983 und Weber, Bergmann und Bauer 1984). Eine Schwärzung des Bleiazetatpapiers nach 48 stündiger Bebrütung der beimpften Cysteinbouillon im CO₂-Milieu wurde als positiv bewertet.

3.1.3.5 Verhalten gegenüber Nalidixinsäure

Das Verhalten gegenüber Nalidixinsäure wurde im Agardiffusionstest auf Iso - Sensitest - Agar (Fa. Oxoid) mit 5% defibriniertem Schafblut überprüft (Weber, Bergmann und Bauer 1984). Nach Ausspateln von 0,1 ml einer mit Peptonwasser hergestellten Kulturaufschwemmung wurde der Iso - Sensitest - Agar mit einem Nalidixinsäureblättchen (30µg, Fa. Oxoid) beschickt. Die Beurteilung des Hemmhofes erfolgte nach 48 stündiger Bebrütung.

3.1.4 Überprüfung des Resistenzverhaltens

Fünzig Stämme wurden lyophilisiert und später auf ihre Empfindlichkeit gegenüber 12 Antibiotika überprüft.

Die Empfindlichkeitsprüfung erfolgte im Agardiffusionstest auf 5% Schafblut enthaltendem Iso - Sensitest - Agar (Fa. Oxoid). Die Beladung der Testplättchen und die Bewertungskriterien werden aus der Tabelle 1 ersichtlich.

Der Agardiffusionstest wurde in folgender Weise durchgeführt:

In Plastik - Petrischalen mit neun cm Durchmesser wurden ca. 25ml Iso - Sensitest - Blut - Agar ausgegossen, sodaß eine Agar-Schichtdicke von etwa vier mm erreicht wurde. Für das Inoculum wurden ca. zehn Kolonien mit der Öse berührt und diese in drei ml steriles Peptonwasser verbracht. Nach Ausspateln von 0,1 ml der Keimsuspension mit einem Drigalski-Spatel und Beschickung der Agar-Oberfläche mit je zwei Antibiotikablättchen mit einer sterilen Pinzette erfolgte nach einer etwa einstündigen Vordiffusionszeit bei Zimmertemperatur die Bebrütung über 48 Stunden bei 43°C in einem Gasgemisch von 10% CO₂, 10% O₂ und 80% N₂.

Die Auswertung der Tests erfolgte durch Messung der Hemmhöfe in Millimeter, die Bewertung wurde nach den in Tabelle 1 angegebenen Bewertungskriterien vorgenommen.

Die Bewertung für die zugrunde gelegten Hemmhofdurchmesser wurde einer Studie der Paul - Ehrlich - Gesellschaft für Chemotherapie e.V., Arbeitsgemeinschaft Resistenz, entnommen.

Tabelle 1: Bewertungstabelle zur Empfindlichkeitsbestimmung bestimmter
Chemotherapeutika

Antibiotikum	Beschickungsmenge je Testblättchen (µg)	Hemmhofdurchmesser für die Bewertungsstufe	
		Empfindlich über mm	Resistent bis mm
Penicillin	10 IE	12	12
Erythromycin	15	18	18
Ampicillin	10	13	13
Streptomycin	10	11	11
Trimethoprim/ Sulfamethoxazol	25	10	10
Tetracyclin	30	16	16
Chloramphenicol	30	12	12
Polymyxin B	300 IE	14	14
Furazolidon	100	10	10
Neomycin	30	18	18
Gentamycin	10	14	14
Tylosin	30	14	14

3.1.5 Immunofluoreszenz

Neben der überwiegend angewandten kulturellen Untersuchung wurde teilweise die direkte Immunofluoreszenz eingesetzt.

Die Herstellung des Hyperimmunserums erfolgte durch Immunisierung von heterozygoten Kaninchen mit einer Mischung aus drei von Broilern isolierten Campylobacter-Stämmen. Die Immunisierung der Tiere erfolgte nach dem von Ruiz-Palacios (1981) angegebenen Schema.

Immunisierungsschema:

1. Woche: 1. Tag 0,5 ml i.v. (Formaldehyd-inaktivierte Bakterien = FiB)
2. Tag 0,5 ml i.v. (FiB)
2. Woche: 1. Tag 1,0 ml i.v. (FiB)
2. Tag 1,0 ml i.v. (FiB)
3. Woche: 1. Tag 1,0 ml i.v. (FiB)
2. Tag 1,0 ml i.v. (FiB)
4. Woche: 1. Tag 1,0 ml i.v. (FiB)
2. Tag 1,0 ml i.v. (FiB)
und 2,0 ml i.m. hitzeinaktivierte Bakterien und Freund'sches
inkomplettes Adjuvans im Verhältnis 1:1.
5. Woche: 1. Tag 1,0 ml i.v. (FiB)
2. Tag 1,0 ml i.v. (FiB)
und 2,0 ml i.m. hitzeinaktivierte Bakterien und Freund'sches
inkomplettes Adjuvans im Verhältnis 1:1.
9. Woche: Boosterung
0,5 ml s.c. hitzeinaktivierte Bakterien
und 2,0 ml i.m. hitzeinaktivierte Bakterien und Freund'sches
inkomplettes Adjuvans im Verhältnis 1:1.
10. Woche: Entblutung

Mit diesen Hyperimmunseren wurde ein Konjugat für die Immunofluoreszenz (Wizigmann 1984) hergestellt.

Die Herstellung der zu beurteilenden Präparate erfolgte in folgender Weise: Luftgetrocknete Objektträgerausstriche von Koloniematerial, Mekonium bzw. Kot wurden nach zehn-minütiger Fixierung in Aceton 45 Minuten mit Konjugat überschichtet und bei 37°C in einer feuchten Kammer inkubiert. Eine 1:5 Verdünnung des Konjugats erwies sich für die Herstellung der Präparate am geeignetsten.

Nach dreimaligem Waschen (je fünf Minuten in Phosphat - gepufferter - physiologischer Kochsalzlösung) wurden die Präparate in PBS und Glycerin (1:1) mit einem pH-Wert von 7,4 eingebettet und in einem Durchlichtfluoreszenzmikroskop durchgemustert.

3.2 Histologische Untersuchung

Im Rahmen des experimentellen Versuches 1 (s. Seite 30) wurden 45 Proben zur histologischen Untersuchung entnommen:

Duodenum von 15 Tieren (aufsteigender Schenkel, kaudal des Pankreas),
Jejunum von 15 Tieren, Ileum von 15 Tieren (kranial des Caecum).

Im Rahmen des experimentellen Versuches 2 (s. Seite 31) wurden oben genannte Darmabschnitte von jeweils 20 Tieren zur histologischen Untersuchung entnommen. Nach sofortiger Formalinfixierung (1:6) und Paraffineinbettung wurden ca. 5 µm dicke Schnitte angefertigt und mit Hämatoxylin - Eosin gefärbt.

Herrn Prof. Dr. G. Wizigmann danke ich für die Konjugat-Herstellung, Herrn Dr. H. Wiedemann für die Unterstützung bei den Immunofluoreszenz-Untersuchungen, Herrn Dr. J. Weikel für die Hilfestellung bei der histologischen Untersuchung.

3.3 Untersuchungsmaterial und Bearbeitungstechnik

24 Broilerherden aus sechs Mastbetrieben wurden ab dem Eintagsküken über die gesamte Mastperiode und während der Schlachtung auf das Vorkommen von *Campylobacter jejuni/coli* kontrolliert.

3.3.1 Brüterei - Eintagsküken

3.3.1.1 Mekoniumproben

In der Brüterei wurden aus 16 Broilerherden von Eintagsküken Mekoniumproben gewonnen und auf *Campylobacter jejuni/coli* untersucht.

Von 14 dieser Herden standen Mekoniumsammelproben zur Verfügung. Dazu wurden von jeder Herde 100, zum Teil 200 Mekonium Einzelproben zu einer bzw. zwei Sammelproben vermischt. Pro Herde wurden somit 100 - 200 Tiere erfaßt.

Die Mekoniumsammelproben kamen gekühlt (ca. 4-6°C) zur Untersuchung und wurden im Direktausstrich auf je zwei halbe Selektivnährböden verbracht.

Bei zwei Broilerherden wurden von je 30 Tieren das Mekonium auf sterile Watteträger ausgedrückt, in Transportmedium verbracht, gekühlt transportiert und am selben Tag auf je zwei halbe Festnährböden ausgestrichen.

Für alle Routineuntersuchungen wurden Selektivnährböden mit dem Supplement nach Skirrow (1977) unter Zugabe des Anreicherungssupplementes nach George (1978) und mit dem Supplement nach Blaser (1979) (s. jeweils Seite 16) parallel verwendet.

3.3.2 Mastbetriebe

3.3.2.1 Transportkisten-Tupfer

Von acht Broilerherden wurden die Eintagsküken erst im Mastbetrieb auf das Vorkommen von *Campylobacter jejuni/coli* überprüft. Zur Erfassung einer

möglichst großen Kükenzahl wurden in diesen Fällen die Kükentransportkisten untersucht. Mit vier sterilen Watteträgern wurde jeweils eine Plastiktransportkiste, in der 100 Küken ohne Papiereinlage zum Transport kamen, gleichmäßig getupfert. Dazu wurde der Boden der Transportbehälter (63 cm x 42 cm) geviertelt und jedes Viertel (15,75 cm x 10,5 cm) mit einem Tupfer intensiv abgerieben. Diese Tupfer kamen bei ca. 4-6°C gekühlt zur Untersuchung. Die Anzahl der untersuchten Transportkisten pro Broilerherde wurde auf zehn festgesetzt. Die Verarbeitung der Tupfer erfolgte in bei den Mekoniumproben beschriebener Weise.

3.3.2.2 Kloakentupfer

Im weiteren Mastverlauf wurden in den sechs Mastbetrieben 24 Herden überwiegend an je drei Untersuchungsterminen über Kloakentupfter auf die Ausscheidung von *Campylobacter jejuni/coli* kontrolliert. Pro Mastherde wurden zwischen 60 und 90 Tupfer entnommen. Insgesamt kamen 2090 Kloakentupfer zur Untersuchung, die gekühlt transportiert am selben Tag oder in Transportmedium gekühlt transportiert (ca. 4-6°C) am darauffolgenden Tag auf je zwei halbe Festnährböden ausgestrichen wurden. Als Herde bzw. epidemiologische Einheit wurde die in einer ummauerten Stalleinheit gehaltene Tiergruppe - meist 14 000 bzw. in einem Betrieb 1 000 Tiere - gewertet. Der zeitliche Abstand zwischen den Entnahmetermen lag zwischen sieben und 16 Tagen. Die Entnahmen erfolgten:

1. Probeentnahme: jeweils zwischen 8. und 15. Masttag
2. Probeentnahme: jeweils zwischen 16. und 31. Masttag
3. Probeentnahme: möglichst unmittelbar vor der Schlachtung zwischen 31. und 39. Tag.

3.3.3 Geflügel - Schlachtereien

3.3.3.1 Blinddärme

Aus den kontrollierten sechs Geflügelmastbetrieben wurden während der Schlachtung aus 17 Herden insgesamt 380 Blinddärme bei der Eviszeration

entnommen, jeweils einzeln in Plastikbeutel verbracht und gekühlt in das Labor transportiert oder versandt, so daß spätestens nach 24 Stunden die Blinddärme untersucht werden konnten. Dazu erfolgte die Eröffnung der Blinddärme mit sterilem Besteck, es wurde eine Öse Darminhalt entnommen und auf je zwei Selektivnährböden ausgestrichen.

Zusätzlich zu den im Rahmen von Verfolgungsuntersuchungen entnommen und untersuchten Blinddärmen wurden 450 Blinddärme von Broilern aus zehn willkürlich ausgewählten Mastbetrieben untersucht. Pro Betrieb kamen dabei zwischen zehn und 30 Blinddärme zur bakteriologischen Untersuchung. Anlässlich der Schlachtung einer Mastelterntierherde wurden 200 Blinddärme aus dieser Herde auf *Campylobacter jejuni/coli* untersucht.

Eine quantitative Untersuchung auf *Campylobacter jejuni/coli* erfolgte bei 40 Blinddärmen aus drei Betrieben. Dazu wurde jeweils 0,1 g Kot in einer Verdünnungsreihe in Zehnerstufen von 10^{-2} bis zu einer Verdünnung von 10^{-8} mit 0,1% Pepton in phys. NaCl-Lösung hergestellt. Aus der jeweiligen Verdünnungsstufe wurden 0,1 ml auf zwei *Campylobacter* - Selektivagar - Platten übertragen. Die Beurteilung und Zählung der gewachsenen Kolonien erfolgte nach 48 stündiger Bebrütung.

Der Einfluß der Tiefkühlagerung auf das qualitative Vorkommen von *Campylobacter jejuni/coli* wurde bei der Untersuchung von 60 Blinddärmen, auf das quantitative Vorkommen bei der Untersuchung von fünf Blinddärmen nach Lagerung bei -20°C überprüft.

3.3.3.2 Hautproben

Zur Erfassung der Kontamination der geschlachteten Hähnchen mit *Campylobacter jejuni/coli* im Rahmen der Verfolgungsuntersuchungen wurden Hautproben an verschiedenen Stufen der Schlachtkette entnommen.

Insgesamt kamen 475 Hautproben zur Untersuchung.

Zur qualitativen Untersuchung wurden nach dem gekühlten Transport die Haut-

stücke (ca. 4 x 4 cm) mit 5 ml steriler physiologischer NaCl-Lösung im Stomacher 60 Sekunden zerquetscht. (Stomacher Lab - Blender 400) und 0,1 ml der Suspension auf je zwei Campylobacter - Selektivnährböden ausgespatelt.

Neben der qualitativen Untersuchung wurden 20 Untersuchungen zum quantitativen Vorkommen von Campylobacter jejuni/coli auf der Broilerhaut durchgeführt. Ausgestanzte definiert große Brusthautstücke (25 cm^2 oder 16 cm^2) wurden abgewogen, bis 10^{-4} mit steriler physiologischer NaCl-Lösung verdünnt, 60 Sekunden im Stomacher zerquetscht und jeweils 0,1 ml aus jeder Verdünnung auf zwei Festnährböden ausgespatelt, bebrütet und ausgewertet.

Insgesamt 65 Hautproben wurden nach 12-wöchiger Lagerung bei -20°C in beschriebener Weise untersucht.

3.3.3.3 Muskulatur

Das Vorkommen von Campylobacter jejuni/coli in der Muskulatur wurde an 50 Muskulaturproben aus sechs Schlachtpartien untersucht.

Die Muskulaturproben wurden im Rahmen der Verfolgungsuntersuchungen von gekühlt transportierten Broilern im Labor entnommen. Die Brustmuskulatur wurde nach intensivem Abflammen der Oberflächenmuskulatur aus der Tiefe entnommen und auf je zwei Festnährböden ausgestrichen.

Der Einfluß der Tiefkühlagerung nach 12-wöchiger Lagerung bei -20°C auf das Vorkommen von Campylobacter jejuni/coli in der Muskulatur wurde bei 15 Tieren aus drei Schlachtpartien untersucht.

3.3.3.4 Lebern

Insgesamt wurden 30 Lebern im Direktausstrich auf das Vorhandensein von Campylobacter jejuni/coli von Broilern aus drei während der Mast kon-

trollierten Herden untersucht.

Davon wurden zehn Lebern über 12 Wochen bei -20°C gelagert und wiederum untersucht.

3.3.3.5 Dünndärme

Aus zwei Herden wurden insgesamt zehn Dünndärme in die Verfolgungsuntersuchung einbezogen.

Die Verarbeitung erfolgte in der bei den Blinddärmen beschriebenen Weise. Fünf Dünndärme wurden nach 12-wöchiger Lagerung bei -20°C nochmals untersucht.

3.3.3.6 Spinchillerwasser

Bei den Stufenkontrolluntersuchungen, bzw. bei der Entnahme der Haut und der Organe in den Schlachtereien wurden drei Wasserproben aus der Gegenstromkühlung entnommen und davon 0,1 ml Flüssigkeit auf je zwei Festnährböden ausgespatelt. Bei den zwei dieser Spinchillerwasserproben erfolgte eine quantitative Untersuchung.

3.3.3.7 Brühkesselwasser

Zwei Brühwasserproben (55°C) wurden auf *Campylobacter jejuni/coli* qualitativ untersucht. Dazu wurden die an drei verschiedenen Schlachttagen entnommenen Wasserproben sofort nach der Entnahme auf ca. $4-6^{\circ}\text{C}$ gekühlt und transportiert.

3.3.3.8 Auftauwasser

von 15 tiefgefrorenen Broilern wurde das Auftauwasser qualitativ untersucht. Die Broiler lagerten bei -20°C über 12 Wochen lang und wurden über 18 Stunden lang bei Zimmertemperatur aufgetaut. 0,1 ml des Auftauwassers wurde auf je zwei Festnährböden ausgespatelt.

3.3.4 Sektionsmaterial - Blinddärme

Im Rahmen von zu dieser Arbeit durchgeführten Vorversuchen wurden Blinddärme verschiedener Wirtschafts-Geflügel-Arten auf das Vorhandensein von *Campylobacter jejuni/coli* untersucht. Dabei handelte es sich um Blinddärme von 54 Mastküken im Alter von drei bis sechs Wochen, 46 Mastküken im Alter bis zu zehn Tagen, 24 Legehennen, 7 Junghennen, 4 Mastelterntieren, 5 Puten und 1 Gans aus insgesamt 58 Betrieben.

3.3.5.2 Infektionsversuche

Die Frage der pathogenen Bedeutung von *Campylobacter jejuni/coli* für das Mastgeflügel und die Ausbreitungstendenz dieser Keime beim Einzeltier und in der Herde sollte anhand experimenteller Untersuchungen untersucht werden. In zwei Versuchen wurden von insgesamt 200 eingestellten Versuchstieren 99 Mastküken mit einem aus Broilern isolierten Feldstamm per Schlundsonde infiziert und in Isolierstallungen in Bodenhaltung auf Hobelspaneinstreu gehalten. Gefüttert wurde kommerzielles, pelletiertes Mastfutter mit Zusatz von Monensin als Coccidiostaticum und Avotan als Wachstumsförderer. Trinkwasser und Futter standen ad libitum zur Verfügung.

Infektionsversuch 1:

In vier nebeneinander liegenden, durch Drahtgitter geteilten Abteilen, wurden je 25 Tiere am ersten Lebenstag in den Versuchsstall eingestallt. Die Küken des Abteil IV wurden vor Versuchsbeginn am 11. Lebenstag durch Kloakentupfer auf *C. jejuni/coli* untersucht und erwiesen sich als frei von diesem Keim. Die Tiere dieses Abteils wurden nach dieser Kontrolluntersuchung aus arbeitstechnischen Gründen geschlachtet. Am 11. Lebenstag erfolgte die Infektion der Tiere zweier Abteile (Gruppe I und III) auf oralem Wege. Eine nichtinfizierte Gruppe mit 25 Tieren wurde zwischen den beiden Infektionsgruppen gehalten (Gruppe II). Die Infektionsdosis war bei den beiden Versuchsgruppen unterschiedlich. In einem Abteil wurde pro

Küken $4,0 \times 10^3$ Keime in 0,5 ml physiologischer NaCl-Lösung eingegeben, im zweiten Abteil erfolgte die Infektion mit $1,0 \times 10^9$ Keimen in 0,5 ml NaCl-Lösung je Tier.

Der Infektionsverlauf wurde über wöchentliche Kloakentupfer-Entnahme bakteriologisch kontrolliert. Pro Gruppe wurden dazu 12 bis 14 Tupfer pro Woche entnommen, insgesamt kamen dabei 204 Tupferproben zur Untersuchung. Am 42. Masttag wurden die Tiere aller drei Versuchsabteile geschlachtet und die Infektion der Tiere und die Belastung der einzelnen Organsysteme mit *Campylobacter jejuni/coli* überprüft.

Dabei wurden untersucht:

1. 36 Blinddärme (pro Gruppe 12 Blinddärme qualitativ und pro Gruppe die Blinddärme von fünf Tieren quantitativ).
2. 36 Dünndärme (pro Gruppe 12 Dünndärme qualitativ und pro Gruppe die Dünndärme von fünf Tieren quantitativ).
3. Muskulatur von allen bis Versuchsende überlebenden 70 Tieren.
4. Lebern von allen bis Versuchsende überlebenden 70 Tieren und pro Gruppe die Lebern von fünf Tieren quantitativ.

Infektionsversuch 2:

Die Küken der Gruppen V und VIII wurden vor Versuchsbeginn durch Kloakentupferuntersuchung auf *C. jejuni/coli* untersucht und erwiesen sich als frei von diesem Keim.

In diesem Versuch wurden in vier nebeneinanderliegenden Abteilen eines gleichartigen Isolierstalles, wie in Versuch 1, je 25 Küken am ersten Lebenstag eingestallt und wie in Versuch 1 gefüttert und getränkt. In den zwei nebeneinanderliegenden Abteilen V und VI (24 bzw. 25 Tiere) erfolgte die Infektion am dritten Lebenstag in oben beschriebener Weise mit Schlundsonde mit 6×10^2 Keimen/Tier.

Die Tiere der beiden nicht infizierten Versuchsgruppen (Gruppe VII und VIII, je 25 Tiere) dienten als Kontrollgruppen.

Der Infektionsverlauf wurde durch wöchentliche Entnahme von 11 bis 25 Kloakentupfern pro Gruppe, inklusive Kontrollgruppen, mit insgesamt 339 kultu-

rell untersuchten Kloakentupfer verfolgt. Zur Erfassung der Infektionsquoten der Versuchsgruppen und der Campylobacterinfektionen der Organsysteme wurden am Schlachttag (36. Masttag) folgende Organe entnommen und auf *C. jejuni/coli* untersucht:

1. 20 Blinddärme, je zehn aus der infizierten Gruppe V und der Kontrollgruppe VIII qualitativ und aus beiden Gruppen je fünf Blinddärme quantitativ.
2. 20 Dünndärme, je zehn aus der infizierten Gruppe V und der Kontrollgruppe VIII qualitativ.
3. Muskulatur von 90 Tieren, je 22 aus den beiden Infektionsgruppen V und VI und der Kontrollgruppe VIII und 24 aus der Kontrollgruppe VIII.
4. 20 Lebern, je zehn aus der infizierten Gruppe V und der Kontrollgruppe VIII.

Einen Überblick über die Kontamination von Einstreu und Tränkewasser mit *Campylobacter jejuni/coli* im Stallbereich sollten die Untersuchungen von insgesamt 20 Einstreuproben und drei Tränkewasserproben anlässlich des 2. Versuches bringen.

Dazu wurde am 19. Lebenstag die Einstreu von den kontrollierten Abteilen an je vier verschiedenen Stellen entnommen und untersucht. 40 g Einstreu wurde mit 200 ml physiologischer NaCl-Lösung vermischt und 60 Sekunden im Stomacher zerkleinert. 0,1 ml dieser Lösung wurde auf je einen Selektivnährboden ausgespatelt. Am 23. und 36. Masttag erfolgte zusätzlich eine quantitative Untersuchung von insgesamt acht Einstreuproben aus allen vier Abteilen, wobei 40 g Einstreu in 360 ml physiologischer NaCl-Lösung im Becherglas intensiv durch Schütteln vermischt und eine Verdünnungsreihe bis 10^{-7} hergestellt wurde.

Die drei untersuchten Tränkewasserproben wurden in Mengen von 0,1 ml auf den entsprechenden Nährboden ausgespatelt.

4. Untersuchungsergebnisse

4.1 Nährböden - Isolierungsbedingungen

Die beschriebenen Selektivnährböden nach Skirrow, Blaser und Butzler wurden vergleichend bei der Untersuchung von 52 Blinddärmen zur Feststellung ihrer Effektivität angewendet. Der Einfluß unterschiedlicher Gaszusammensetzungen wurde dabei berücksichtigt.

Die Ergebnisse dieser Untersuchung sind in Tabelle 1 dargestellt.

Tabelle 1: Nährmedium - und Milieuvergleich beim Nachweis von
Campylobacter jejuni/coli aus Blinddärmen von Geflügel
bei Bebrütungstemperatur von 43°C

Blaser Gas-Gen *	Blaser Gasgem.**	Butzler Gas-Gen*	Butzler Gasgem.**	Skirrow Gas-Gen.*	Skirrow Gasgem.**
Zahl der unter- 52 suchten Blind- därme	52	52	52	52	52
Zahl der C.jej./coli 14(26,9) positiven Blind- därme (%)	14(26,9)	4(7,7)	4(7,7)	14(26,9)	14(26,9)

* Gas - Generating - System (Fa. Oxoid) 10% CO₂, 5% O₂, 85% N₂.

** Gasgemisch von 10% CO₂, 10% O₂ und 80% N₂ im Begasungsbrutschrank.

Zusätzlich wurde der Einfluß verschiedener Gaszusammensetzungen und unterschiedlicher Temperaturen auf das Wachstum von C. jejuni/coli bei 39 Blinddärmen von Sektionsgeflügel untersucht. Diese Ergebnisse sind in Tabelle 2 dargestellt.

Tabelle 2: Gasmilieu - und Temperaturvergleich beim Nachweis von C. jejuni/coli aus Blinddärmen von Sektionsgeflügel auf Selektivnährböden nach Blaser

Gaszusammensetzung und Temperatur	Zahl der untersuchten Blinddärme	Zahl der C.jejuni/coli positiven Blinddärme
10% CO ₂ , 10% O ₂ , 80% N ₂ 43°C	39	6
10% CO ₂ , 5% O ₂ , 85% N ₂ 43°C	39	6
10% CO ₂ , 5% O ₂ , 85% N ₂ 37°C	39	5

Der Effekt der Anreicherungsbouillon - Thioglycollate broth mit 5% lysiertem Schafblut - wurde an 90 Muskulaturproben überprüft. Das Ergebnis zeigt Tabelle 3.

Tabelle 3: Vergleichende Untersuchungen von Direktausstrich und Anreicherungsbouillon zum Nachweis von C. jejuni/coli

Zahl der untersuchten Muskelproben	Zahl der C.jej./coli positiven Muskelproben	
	Direktausstrich	Anreicherung
90	3 (3,3%)	0

Der Einfluß des Transportmediums nach Cary und Blair (1964) unter Berücksichtigung unterschiedlicher Lagerungstemperaturen auf die Rückisolierung von *C. jejuni/coli* ist in Tabelle 4 dargestellt.

Tabelle 4: Rückisolierung von *C. jejuni/coli* unter Berücksichtigung eines Transportmediums und verschiedener Lagerungsbedingungen

Lagerungsbedingungen	Infektionsart Lagerungstemperatur		Rückisolierung nach		
			2 Tagen	5 Tagen	7 Tagen
C. jej. /coli kontaminierte Tupfer in Transportmedium (Cary und Blair) gelagert	C. jej. /coli Reinkultur 20°C	Stamm 1	+	-	-
		Stamm 2	-	-	-
		Stamm 3	-	-	-
		Stamm 4	-	-	-
	C. jej. coli Reinkultur 4°C	Stamm 1	+	+	+
		Stamm 2	-	-	-
		Stamm 3	+	+	-
		Stamm 4	+	-	-
	C. jej. /coli u. Kot 20°C	Stamm 1	+	-	-
		Stamm 2	-	-	-
		Stamm 3	+	-	-
		Stamm 4	+	-	-
	C. jej. /coli u. Kot 4°C	Stamm 1	+	-	-
		Stamm 2	+	+	-
		Stamm 3	+	+	-
		Stamm 4	+	-	-
C. jej. /coli kontaminierte Tupfer ohne Transportmedium gelagert	C. jej. /coli Reinkultur 20°C	Stamm 1	-	-	-
		Stamm 2	-	-	-
		Stamm 3	-	-	-
		Stamm 4	+	-	-
	C. jej. /coli Reinkultur 4°C	Stamm 1	+	-	-
		Stamm 2	-	-	-
		Stamm 3	-	-	-
		Stamm 4	-	-	-
	C. jej. /coli u. Kot 20°C	Stamm 1	-	-	-
		Stamm 2	-	-	-
		Stamm 3	-	-	-
		Stamm 4	-	-	-
	C. jej. /coli u. Kot 4°C	Stamm 1	-	-	-
		Stamm 2	-	-	-
		Stamm 3	+	-	-
		Stamm 4	-	-	-

Aufgrund der Ergebnisse der Voruntersuchungen mit festen Nährböden, zum Gasgemisch, zur Bebrütungstemperatur, zur Anzüchtung über ein Anreicherungsmedium und zum Transport der Untersuchungsmaterialien in einem halbfesten Nährmedium wurden für die nachfolgenden Untersuchungen die Nährböden nach Blaser und Skirrow verwendet. Dem Selektivnährboden nach Skirrow wurde das Anreicherungssupplement nach George et al. (1978) zugesetzt.

Die Anzüchtung von *C. jejuni/coli* bei den weiteren Untersuchungen erfolgte in einem Begasungsbrutschrank mit einem Gasgemisch von 10% CO₂, 10% O₂ und 80% N₂ und bei einer Bebrütungstemperatur von 43°C.

Die Anreicherungsbouillon wurde nach den Ergebnissen der Tabelle 3 in den eigenen Untersuchungen nicht mehr verwendet. Dagegen fand das Transportmedium nach Cary und Blair bei der Versendung der Kloakentupfer Anwendung.

Zur Ermittlung von günstigen Lagerungsbedingungen für Erhaltung der Isolate wurden zehn Stämme auf Plattenkulturen bei 20°C und bei 4°C über zehn Tage auf ihre Überlebensfähigkeit überprüft. Das Ergebnis ist in Tabelle 5 aufgelistet.

Tabelle 5: Überlebensfähigkeit von *C. jejuni/coli* (Geflügel) nach Lagerung auf Plattenkulturen bei Zimmertemperatur und Kühlschranktemperatur

Stamm	20°C Zimmertemperatur			4°C Kühlschranktemperatur				
	2 Tg	4 Tg	6 Tg	2 Tg	4 Tg	6 Tg	8 Tg	10 Tg
1	-	-	-	+	+	+	-	-
2	-	-	-	+	+	+	-	-
3	-	-	-	+	+	+	+	-
4	+	-	-	+	+	+	-	-
5	+	-	-	+	+	+	-	-
6	-	-	-	+	+	+	+	-
7	-	-	-	+	+	+	+	-
8	-	-	-	+	+	+	-	-
9	-	-	-	+	+	+	-	-
10	+	-	-	+	+	+	-	-

Die quantitativen Wiederanzüchtungsraten aus kühl (2-4°C) gelagerten Blinddärmen nach neun und 20 Tagen sind in Tabelle 6 aufgeführt.

Tabelle 6: Wiederanzüchtungsraten aus kühl (2-4°C) gelagerten
Blinddärmen von Broilern

Untersuchungs- material	C.jej./coli Kot frisch	C.jej./coli nach 9 Tagen Lagerung 4°C	C.jej./coli nach 20 Tagen Lagerung 4°C
Blinddarm 1	$3,0 \times 10^7$	n.u.	$1,0 \times 10^7$
Blinddarm 2	$7,0 \times 10^7$	n.u.	Ø *
Blinddarm 3	$3,0 \times 10^6$	n.u.	$4,0 \times 10^5$
Blinddarm 4	$2,0 \times 10^6$	n.u.	Ø
Blinddarm 5	$6,0 \times 10^7$	n.u.	Ø
Blinddarm 6	$8,0 \times 10^7$	$1,0 \times 10^7$	n.u.
Blinddarm 7	$5,0 \times 10^7$	$4,0 \times 10^7$	n.u.
Blinddarm 8	$1,0 \times 10^8$	$1,0 \times 10^7$	n.u.
Blinddarm 9	$1,6 \times 10^8$	$1,7 \times 10^7$	n.u.
Blinddarm 10	$3,0 \times 10^7$	$1,0 \times 10^7$	n.u.

n.u. = nicht untersucht

Ø * = negativ, Nachweisgrenze $> 10^2$ K/g Blinddarminhalt

4.2 Koloniemorphologie - mikroskopisches Bild

Nach der mindestens 48 stündigen Bebrütung der Nährböden erfolgte die makroskopische Beurteilung, bei der flache, graue, manchmal bräunlich bis braunrosa gefärbte, glatt glänzende, meist dem Impfstrich folgende Kolonien zu sehen waren. Die Koloniegröße schwankte zwischen 1 und 3 mm. Im Nativpräparat zeigten sich die Bakterien als äußerst schnell bewegliche, meist kokkoid -, komma- oder spiralförmige Zellen. Das Gesamtbild war als "mückenschwarmähnlich" anzusprechen. Mittels der Gramfärbung konnte das Vorliegen der gramnegativen, typisch korkenzieherartigen bzw. schraubenförmigen Stäbchen bestätigt werden.

4.3 Gattungs - und Artbestimmung

60 Isolate, die nach Koloniemorphologie, dem mikroskopischen Bild, der positiven Oxidase - und Katalasebildung als *C. jejuni/coli* bestimmt wurden, sind zur weiteren Typisierung nach dem unter 2.5 aufgezeigten Schema bearbeitet worden. Nach dem Verhalten in Bezug auf Hippuratspaltungsvermögen, H_2S - bildungsvermögen und Empfindlichkeit gegenüber Nalidixinsäure ließen sich die 60 Isolate in fünf Gruppen einordnen. (siehe Tabelle 7)

Tabelle 7: Zuordnung von 60 *C. jejuni/coli* - Isolaten aufgrund der Hippuratspaltung, der H_2S - bildung und dem Verhalten gegenüber Nalidixinsäure

Gruppe	Zahl der Isolate	Hippurat-spaltung	H_2S - bildung	Nalidixin-säure sens.	Nalidixin-säure res.
1	20	20	0	20	0
2	17	17	17	17	0
3	15	0	15	15	0
4	4	4	4	0	4
5	4	4	0	0	4
insgesamt	60	45	36	52	8

Nach den biochemischen Reaktionen und der Empfindlichkeit gegenüber Nalidixinsäure ließen sich die Isolate nach dem Schema von Skirrow und Benjamin (1980b) wie folgt zuordnen:

Tabelle 8: Typisierung von 60 C. jejuni/coli - Isolaten nach dem Schema von Skirrow und Benjamin (1980b)

Species	Zahl der Isolate (%)
C.jejuni Biotyp 1	20 (33,3)
C.jejuni Biotyp 2	17 (28,3)
C.coli	0
NARTC	0

23 der Isolate (38,3%) waren diesem Schema nicht zuzuordnen.

4.4 Resistenzverhalten

Fünfundzig Feldisolate von Broilern wurden auf ihr Verhalten gegenüber 12 Antibiotika geprüft. (Tabelle 9)

Tabelle 9: Resistenzverhalten von 50 C. jejuni/coli - Isolaten
von Broilern gegenüber 12 Antibiotika

Antibiotikum	Zahl der resistenten Stämme (%)
Penicillin	36 (72)
Erythromycin	8 (16)
Ampicillin	12 (24)
Streptomycin	11 (22)
Trimethoprim/ Sulfamethoxazol	24 (48)
Tetracyclin	10 (20)
Chloramphenicol	0
Polymyxin B	3 (6)
Furazolidon	3 (6)
Neomycin	0
Gentamycin	1 (2)
Tylosin	8 (16)
Nalidixinsäure	4 (8)

Alle C. jejuni/coli - Stämme erwiesen sich als empfindlich gegenüber Chloramphenicol und Neomycin, gegenüber Gentamycin waren 49 Stämme empfindlich. Auch gegenüber Furazolidon, Nalidixinsäure und Polymyxin B zeigten 92% - 94% eine Empfindlichkeit. Gegenüber Erythromycin zeigten sich 84% der Stämme empfindlich. 16% - 24% der Stämme waren resistent gegenüber Tetracyclin, Ampicillin, Tylosin und Streptomycin. Für Penicillin und Trimethoprim / Sulfamethoxazol wurden Resistenzquoten von 72% und 48% ermittelt.

4.5 Immunofluoreszenz

Insgesamt wurden 73 Mekoniumproben und Blinddarminhalte von Mastküken und geschlachteten Broilern vergleichend in der kulturellen Technik und in der Fluoreszenztechnik überprüft. Das Ergebnis zeigt Tabelle 10.

Tabelle 10: Vergleich der kulturellen Nachweisteknik mit
dem Nachweis durch Immunofluoreszenz

Untersuchungsmaterial	Probenzahl	Kultur.Nachweis C.jej./coli positiv (%)	Immunofluoreszenz C.jej./coli positiv (%)
Mekoniumsammelproben	21	Ø	Ø
Blinddärme von Mast- küken bis zu einem Alter von 10 Tagen	12	Ø	4 (30)
Blinddärme von Broilern	40	37 (92,5)	38 (95)

Mit der Immunofluoreszenz wurde eine etwas höhere Nachweisrate in Blinddärmen von geschlachteten Broilern und vor allem in Blinddärmen der zehn Tage alten Mastküken erzielt.

4.6 Verfolgsuntersuchungen in Jungmastgeflügel - Beständen (Broiler) Geflügelschlachtereien

In Tabelle 11 und 12 sind die Ergebnisse von je zwei Masteinheiten á 1 000 Tiere als Verfolgsuntersuchung in Betrieb A dargestellt. In Herde eins und zwei (Tabelle 11) wurde am ersten Lebenstag von jeweils 30 Tieren in der Brüterei das Mekonium auf sterile Watteträger ausgedrückt. In Herde drei und vier (Tabelle 12) wurden am ersten Lebenstag Mekoniumsammelproben entnommen. Am 15. und 31. Lebenstag (Herde eins und zwei) bzw. am 12. und 26. Lebenstag (Herde drei und vier) und am 38. Lebenstag (Tag vor der Schlachtung) wurden von jeder Herde 30 Kloakentupferproben entnommen. Die ersten Untersuchungen der Kloakenproben am 12. bzw. 15. Lebenstag verliefen in allen vier Herden des Betriebes A negativ, während ab 31. Lebenstag (Tabelle 11) bzw. 26. Lebenstag (Tabelle 12) positive Befunde erhoben wurden. Die Kloakentupferuntersuchung am Schlachttag ergab 100% positive Befunde der untersuchten 30 Tiere aller vier Herden. Die weiteren Einzeldaten der Stufenuntersuchungen in der Schlachtereie sind aus Tabelle 11 und 12 zu entnehmen. Jeweils ein hoher Anteil der untersuchten Blind- und Dünndärme, der Brusthaut und der Lebern waren positiv, während die untersuchte Muskulatur frei von *C. jejuni/coli* war. Eine Spinchillerwasserprobe aus Herde vier war positiv, während eine Brühkesselwasserprobe *C. jejuni/coli* negativ war (Tabelle 12).

In den Tabellen 13 und 14 sind weitere Verfolgsuntersuchungen im Betrieb A dargestellt. In allen vier Herden wurden am ersten Lebenstag je eine Mekoniumsammelprobe entnommen und mit negativen Ergebnissen untersucht. Die dreimalige Kloakentupferentnahme während der 39 täglichen Mastdauer ergab ab 12. Lebenstag in Herde sechs (Tabelle 13) die ersten positiven Befunde. Bei der Schlachtung waren alle untersuchten Herden *C. jejuni/coli* positiv, unter Einbezug nahezu aller in Stufenuntersuchungen bearbeiteter Teile der Schlacht tierkörper. Auch hier zeigten sich jedoch die Muskelp Proben des Endproduktes als frei von *C. jejuni/coli*.

Tabelle 11: Verfolgs - und Stufenuntersuchung: Betrieb A

			Zahl der untersuchten Proben/ Zahl der C.jej./coli pos. Pr.	
Ort der Entnahme	Untersuchungs- material	Masttag	Herde 1	Herde 2
Brütereier	Mekonium- tupfer	1	30/0	30/0
Mastbe- trieb	Kloaken- tupfer	15	30/0	30/0
		31	30/30	30/30
		38	30/30	30/30
Schlach- tereier	Blinddärme	38	n.u.	10/10
	Dünndärme			10/10
	Brusthaut			10/9
	Endprodukt			10/6
	Lebern			10/0
	Muskulatur			10/0

n.u. = nicht untersucht

Tabelle 12: Verfolgs - und Stufenuntersuchung: Betrieb A

			Zahl der untersuchten Proben/ Zahl der C.jej./coli pos. Pr.	
Ort der Entnahme	Untersuchungs- material	Masttag	Herde 3	Herde 4
Brütereier	Mekonium- sammelproben	1	1/0	1/0
Mastbe- trieb	Kloaken- tupfer	12	30/0	30/0
		26	30/30	30/30
		38	30/30	30/30
Schlach- tereier	Blinddärme	38	n.u.	10/10
	Brusthaut			5/5
	Endprodukt			10/10
	Lebern			5/0
	Muskulatur			1/1
	Spinchiller- wasser			1/0
	Brühkessel- wasser			1/0

Tabelle 13: Verfolgs- und Stufenuntersuchung: Betrieb A

Ort der Entnahme	Untersuchungs- material	Masttag	Zahl der untersuchten Proben/ Zahl der C.jej./coli positiven Pr.	
			Herde 5	Herde 6
Brütereier	Mekonium- sammelproben	1	1/0	1/0
Mast- betrieb	Kloaken- tupfer	12	30/0	30/11
		26	30/7	30/16
		39	30/30	n.u.
Schlach- tereier			n.u.	n.u.

Tabelle 14: Verfolgs- und Stufenuntersuchung: Betrieb A

Or der Entnahme	Untersuchungs- material	Masttag	Zahl der untersuchten Proben/ Zahl der C.jej./coli positiven Pr.	
			Herde 7	Herde 8
Brütereier	Mekonium- sammelprobe	1	1/0	1/0
Mast- betrieb	Kloaken- tupfer	11	30/0	30/0
		25	20/0	20/15
		34	20/4	20/15
Schlach- tereier	Blinddärme	39	20/17	20/19
	Halshaut		10/10	10/9
	Endprodukt		10/10	10/10
	Kloakenhaut		10/10	10/9
	Endprodukt		10/0	10/0
	Brusthaut			
	Endprodukt			
	Muskulatur			

In den Tabellen 15 und 16 sind die Ergebnisse von je drei Masteinheiten à 14000 Tiere als Verfolgsuntersuchung in Betrieb B dargestellt. In jeder der sechs Herden wurden am 1. Lebenstag zehn Transportsortkisten mit je vier sterilen Tupfern untersucht.

Am achten, 21. und 35. Lebenstag wurden von den Herden eins, zwei und drei je 30 Kloakentupfer entnommen (Tabelle 15). Von den Herden vier, fünf und sechs waren die Entnahmetage der Kloakentupfer der achte, 20. und 34. Lebenstag. (Tabelle 16)

Die Einzeldaten dieser Tupferentnahmen und der Stufenuntersuchung in der Schlachtereie sind den Tabellen 15 und 16 zu entnehmen. Die entnommenen Hautproben an den verschiedenen Stufen waren Kloakenhautproben.

In allen sechs Herden verliefen die Untersuchungen der ersten und zweiten Kloakentupfer-Entnahme negativ. Die Herden eins, zwei, vier, fünf und sechs blieben bei allen weiteren Untersuchungen einschließlich der Schlachtereie-Proben - soweit untersucht - negativ. Nur Herde drei war am 35. Lebenstag, ein Tag vor der Schlachtung, zu 50% C. jejuni/coli positiv. Von dieser Herde waren dann in der Schlachtereie 40% der Blinddärme und 3,3% der Kloakenhaut vom Endprodukt C. jejuni/coli positiv.

Tabelle 15: Verfolgs- und Stufenuntersuchung: Betrieb B

Ort der Entnahme	Untersuchungs-material	Masttag	Zahl der untersuchten Proben/ Zahl der C. jej./coli positiv.Pr.		
			Herde 1	Herde 2	Herde 3
Mastbetrieb	Transportki- stentupfer	1	40/0	40/0	40/0
Mastbetrieb	Kloaken- tupfer	8	30/0	30/0	30/0
		21	30/0	30/0	30/0
		35	30/0	30/0	30/15
Schlachtereie	Blinddärme	36	30/0	30/0	30/12
	Haut Endprodukt		30/0	30/0	30/1

Tabelle 16: Verfolgs- und Stufenuntersuchung: Betrieb B

Ort der Entnahme	Untersuchungs- material	Masttag	Herde 4	Herde 5	Herde 6
Mastbetrieb	Transportki- stentupfer	1	40/0	40/0	40/0
Mastbe- trieb	Kloakentupfer	8	30/0	30/0	30/0
		20	30/0	30/0	30/0
		34	30/0	30/0	30/0
Schlach- tere	Blinddärme	37		20/0	
	Haut nach Töter			10/0	
	Haut nach Abwurf			10/0	
	Haut nach Wäscher			10/0	
	Haut End- produkt			10/0	

Tabelle 17 zeigt die Verfolgsuntersuchung des Betriebes C, dessen Mast-einheiten ebenfalls 14000 Tiere umfassen. Wiederum ergaben Untersuchungen der Transportkisten am ersten Lebenstag und Kloakentupfer-Untersuchung am 12. Lebenstag negative Ergebnisse. In jeder der zwei Herden wurden am ersten Lebenstag zehn Transportkisten mit je vier sterilen Tupfern untersucht, je-weils 30 Kloakentupfer wurden am 12., 26. und 35 Masttag untersucht. Die Kloakentupfer vom 26. und 35. Lebenstag waren dann zwischen 46,7% und 80% C. jejuni/coli positiv mit Steigerung der Kontamination zum Mastende. Die Ergebnisse der Untersuchung der Organe in der Schlachtereie sind ebenfalls Tabelle 17 zu entnehmen. Das Brühkesselwasser war C. jejuni/coli negativ, das Wasser der Gegenstromkühlung war mit $1,3 \times 10^3$ C. jejuni/coli kontaminiert.

Tabelle 17: Verfolgs- und Stufenuntersuchung: Betrieb C

Ort der Entnahme	Untersuchungs-material	Masttag	Zahl der untersuchten Proben/ Zahl der C. jej./coli pos.Pr.	
			Herde 1	Herde 2
Mastbetrieb	Transport-kistentupfer	1	40/0	40/0
Mastbetrieb	Kloakentupfer	12	30/0	30/0
		26	30/21	30/14
		35	30/24	30/15
Schlachtereie	Blinddärme	36		10/10
	Lebern			10/10
	Muskulatur			5/0
	Haut Endprodukt			5/5
	Spinchiller-wasser			1/1
	Brühkessel-wasser			1/0

Tabelle 18 und 19 zeigen die Verfolgs- und Stufenuntersuchung von je zwei Herden des Betriebes D, mit ebenfalls 14 000 Tieren pro Masteinheit. Jede Mekoniumsammelprobe enthielt Mekonium von 100 Küken. Tabelle 18 zeigt, daß alle Untersuchungen vom ersten, 12., 21., 35. und vom Schlachtttag *C. jejuni/coli* negativ waren. Tabelle 19 zeigt negative Untersuchungsergebnisse bis zum zehnten Lebenstag. Am 22. Lebenstag steigt dann die *C. jejuni/coli* Kontamination beider Herden. Die Kloakentupfer vom 34. Lebenstag zeigen eine fast 100% ig positiven Befund beider Herden. Auch die Stufenuntersuchung in der Schlachtereier war dann weitgehend *C. jejuni/coli* positiv. Das Spinchillerwasser war mit 4×10^2 *C. jejuni/coli* kontaminiert.

Tabelle 18: Verfolgs- und Stufenuntersuchung: Betrieb D

Ort der Entnahme	Untersuchungsmaterial	Masttag	Zahl der untersuchten Proben Zahl der <i>C. jej./coli</i> pos.Pr.	
			Herde 1	Herde 2
Brütereier	Mekoniumsammelprobe	1	2/0	1/0
Mastbetrieb	Kloakentupfer	12	30/0	30/0
		21	30/0	30/0
		35	30/0	30/0
Schlachtereier	Blinddärme	38	30/0	30/0
	Haut Endprodukt		30/0	30/0

Tabelle 19: Verfolgs- und Stufenuntersuchung: Betrieb D

			Zahl der untersuchten Proben/ Zahl der C.jej./coli pos.Pr.	
Ort der Entnahme	Untersuchungs- material	Masttag	Herde 3	Herde 4
Brütereier	Mekonium- sammelproben	1	2/0	1/0
Mastbe- trieb	Kloaken- tupfer	10	30/0	30/0
		22	30/18	30/15
		34	30/29	30/28
Schlach- tereier	Blinddärme	36	10/10	10/10
	Haut nach Abwurf		10/10	10/10
	Haut nach Wäscher		10/10	10/10
	Haut Endprodukt		10/10	10/10
	Brusthaut Endprodukt		10/7	
	Muskulatur		10/0	
	Spinchiller- wasser		1/1	

In Tabelle 20 und 21 sind die Ergebnisse von je zwei Masteinheiten à 14 000 Tieren als Verfolgsuntersuchung in Betrieb E und F dargestellt. Die Entnahmedaten und Untersuchungsmaterialien sind entsprechend den bisherigen Verfolgs- und Stufenuntersuchungen den Tabellen 20 und 21 zu entnehmen. Alle Untersuchungen verliefen C. jejuni/coli negativ. Die untersuchten Hautproben in den verschiedenen Stufen waren Kloakenhautproben.

Tabelle 20: Verfolgs- und Stufenuntersuchung: Betrieb E

			Zahl der untersuchten Proben/ Zahl der C.jej./coli pos.Pr.	
Ort der Entnahme	Untersuchungs- material	Masttag	Herde 1	Herde 2
Brütereier	Mekonium- sammelproben	1	2/0	1/0
Mastbe- trieb	Kloaken- tupfer	16	30/0	30/0
		23	30/0	30/0
		36	30/0	30/0
Schlach- tereier	Blinddärme	39	30/0	30/0
	Haut End- produkt		30/0	30/0

Tabelle 21: Verfolgs- und Stufenuntersuchung: Betrieb F

			Zahl der untersuchten Proben/ Zahl der C.jej./coli pos.Pr.	
Ort der Entnahme	Untersuchungs- material	Masttag	Herde 1	Herde 2
Brütereier	Mekonium- sammelproben	1	1/0	2/0
Mastbe- trieb	Kloaken- tupfer	8	30/0	30/0
		16	30/0	30/0
		31	30/0	30/0
Schlach- tereier	Blinddärme	39	30/0	30/0
	Haut nach Abwurf			25/0
	Haut nach Wäscher			25/0
	Haut Endprodukt			25/0

4.7 Untersuchungen über das quantitative Vorkommen von C. jejuni/coli
in Brusthautproben von 20 Schlachttierkörpern (Broiler) und in
40 Blinddärmen

Die Tabelle 22 zeigt das Ergebnis der Untersuchung zum quantitativen Vorkommen von C. jejuni/coli in 20 Brusthautproben von Broilern aus den Betrieben A, C und D.

Bei 11 Brusthautproben lag die Keimzahl unter 10^2 C. jejuni/coli/Hautstück. Sieben Brusthautproben waren mit 10^2 Keimen/Hautstück, eine Probe mit 10^3 Keimen/Hautstück und eine Probe mit 10^3 Keimen/25 cm² Haut kontaminiert.

Die Einzelkeimzahlen pro Gramm Haut bzw. cm² Haut errechnen sich aus der titrierten Gesamtkeimzahl und dem Gewicht bzw. der Größe der Hautstücke. Da alle Hautstücke im Verhältnis 1:10 in physiologischer NaCl-Lösung bearbeitet wurden und beim anschließenden Ausspateln von 0,1 ml Verdünnungslösung auf Campylobacter-Nährböden ein weiterer Verdünnungsfaktor von zehn auftrat, lag die untere Nachweisgrenze bei 100 Keimen/Hautstück.

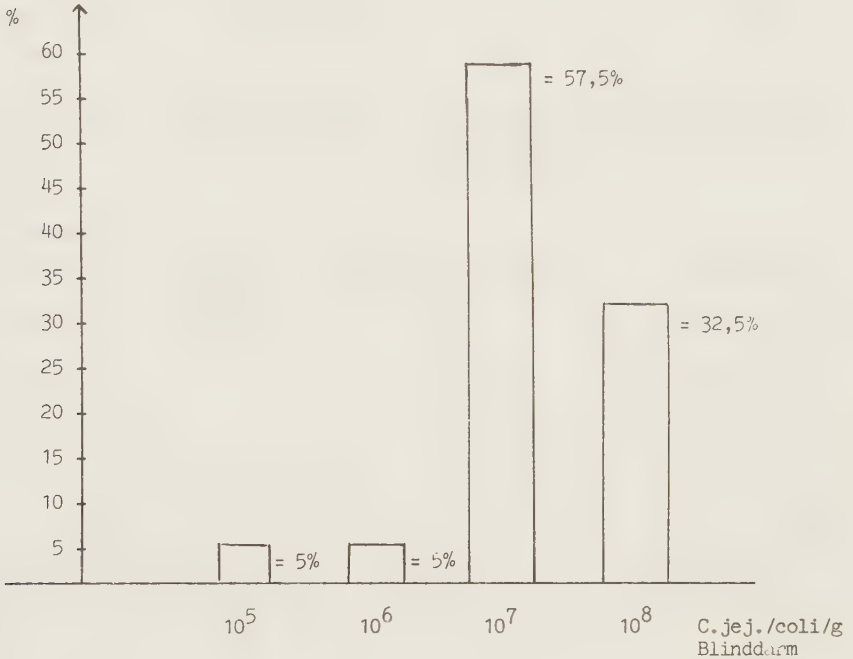
Tabelle 22: Untersuchungen zum quantitativen Vorkommen von *C.jejuni/coli*
auf der Brusthaut von Broilern

Größe der Hautstücke	Gewicht der Hautstücke	Keimzahl/Hautstück	Keimzahl	
			g Haut	cm ² Haut
16 cm ²	1,3 g	Ø *	Ø	Ø
16 cm ²	1,7 g	6 x 10 ²	353	38
16 cm ²	1,0 g	3 x 10 ²	300	19
16 cm ²	1,4 g	5 x 10 ²	357	31
16 cm ²	1,9 g	1 x 10 ²	53	6
16 cm ²	1,6 g	Ø	Ø	Ø
16 cm ²	1,8 g	3 x 10 ²	167	19
16 cm ²	2,2 g	Ø	Ø	6
16 cm ²	1,5 g	1 x 10 ³	666	62
16 cm ²	1,2 g	Ø	Ø	Ø
16 cm ²	1,2 g	Ø	Ø	Ø
16 cm ²	1,22 g	Ø	Ø	Ø
16 cm ²	1,1 g	Ø	Ø	Ø
16 cm ²	2,5 g	9 x 10 ²	360	56
16 cm ²	1,6 g	1 x 10 ²	62	6
25 cm ²	2,5 g	1 x 10 ³	400	62
25 cm ²	3,0 g	Ø	Ø	Ø
25 cm ²	2,9 g	Ø	Ø	Ø
25 cm ²	2,3 g	Ø	Ø	Ø
25 cm ²	3,1 g	Ø	Ø	Ø

* = negativ, bei einer Nachweisgrenze von $> 10^2$ Keimen/Hautstück

Abbildung 1 zeigt in einer Säulendarstellung das Ergebnis der Untersuchung zum quantitativen Vorkommen von *C.jejuni/coli* in 40 Blinddärmen von Broilern aus den Betrieben A, C und D.

Abbildung 1: Quantitatives Vorkommen von *C. jejuni/coli* in 40 Blinddärmen von Broilern



Bei dieser Untersuchung lagen in jeweils 5% die Keimzahlen bei 10^5 und 10^6 Keimen/g Kot. Bei 32,5% der Blinddärme lag die Keimzahl je Gramm Kot bei 10^8 und 57,5% der untersuchten Blinddärme waren mit 10^7 Keimen/g Kot kontaminiert.

4.8 Der Einfluß der Tiefkühlagerung auf C. jejuni/coli kontaminierte Blinddärme, Haut-, Muskulatur-, Leber- und Dünndarmproben

Nach Tabelle 23 wurden 50 Blinddärme vor und nach 15 Tagen Tiefkühlagerung bei -20°C untersucht; 17 (34%) dieser C. jejuni/coli positiven Blinddärme blieben auch **nach der Tiefkühlagerung positiv**.

Nach 12 Wochen Tiefkühlagerung bei -20°C waren von zehn ursprünglich im frischen Zustand positiven Blinddärmen noch fünf C. jejuni/coli positiv, von fünf Dünndärmen war keiner mehr C. jejuni/coli positiv.

Tabelle 23: Der Einfluß der Tiefkühlagerung auf C. jejuni/coli in Blind- und Dünndärmen

Untersuchungs- zeitpunkt	Zahl der untersuchten		Zahl der C. jejuni/coli positiven Blinddärme/Dünnd. (%)
	Blinddärme	Dünndärme	
vor der Tiefkühlung	50		50 (100)
nach 15 Tagen Tiefkühlung	50		17 (34)
vor der Tiefkühlung	10		10 (100)
nach 12 Wochen Tiefkühlung	10		5 (50)
vor der Tiefkühlung		5	5 (100)
nach 12 Wochen Tiefkühlung		5	0 (0)

Die Untersuchung des Einflusses der Tiefkühlagerung auf das quantitative Vorkommen von *C. jejuni/coli* bei der Untersuchung von fünf Blinddärmen nach 12 wöchiger Lagerung bei -20°C zeigt Tabelle 24. Durch das Tiefgefrieren wurden die Keimzahlen bis zu sechs Zehnerpotenzen reduziert.

Tabelle 24: Der Einfluß der Tiefkühlagerung auf das quantitative Vorkommen von *C. jejuni/coli* bei der Untersuchung von fünf Blinddärmen nach 12 wöchiger Lagerung bei -20°C

Blinddarm	<i>C.jej./coli/g</i> Darminhalt in frischem Zustand	<i>C. jej./coli/g</i> Darminhalt nach 12 wöchiger Lagerung bei -20°C
1	$3,2 \times 10^8$	2×10^3
2	$8,0 \times 10^3$	0
3	$1,2 \times 10^8$	0
4	$2,0 \times 10^7$	1×10^5
5	$5,3 \times 10^7$	1×10^4

Die Untersuchung von 65 verschiedenen Hautproben von Broilern nach der Tiefkühlagerung über 12 Wochen bei -20°C zeigt, daß nur noch drei Hautproben nach der Tiefkühlagerung mit *C. jejuni/coli* kontaminiert sind (Tabelle 25).

Tabelle 25: Untersuchungen zum Einfluß der 12 wöchigen Tiefkühlagerung (-20°C)
auf verschiedene Haut-, Muskel-*, Leber und Auftauwasserproben*
von 15 Schlachttierkörper

Untersuchungs- material	Zahl der untersuch- ten Proben	Zahl der C. jej./coli positiven Pr.	
		frisch	nach 12 Wochen (-20°C)
Brusthaut	15	15	1
Halshaut	15	15	0
Kloakenhaut	15	15	0
Schenkelhaut rechts	10	10	1
Schenkelhaut links	10	10	1
Leber	10	6	0
insgesamt	75	71	3

* = Die je 15 Muskel- bzw. Auftauwasserproben waren schon vor der Tief-
kühlagerung C. jejuni/coli negativ und wurden deshalb nicht weiter verfolgt.

4.9 Untersuchung von Blinddärmen zur Erfassung der C. jejuni/coli -
Verbreitung beim Broiler

Aus zehn willkürlich ausgesuchten Mastbetrieben wurden 19 Masteinheiten à 14 000 Tiere bei einem Betrieb à 1 000 Tiere, auf die Verbreitung von C.jejuni/coli untersucht. Pro Masteinheit wurden bei der Schlachtung zehn bis 30 Blinddärme entnommen und untersucht. Die C. jejuni/coli Verbreitung ergibt sich aus Tabelle 26.

Tabelle 26: Untersuchungen von Blinddärmen (Broilern) aus willkürlich
ausgesuchten Mastbetrieben zur Erfassung der Verbreitung
von C. jejuni/coli

	Zahl	C.jej./coli positiv (%)
Betriebe	10	4 (40)
Mastein- heiten	19	10 (52)
Blinddärme	450	215 (47,8)

In einer weiteren Untersuchungsreihe wurden 200 Blinddärme aus einer 2 000 Tiere umfassenden Mastelterntierherde anlässlich der Schlachtung dieser Herde in der 60. Lebenswoche auf C. jejuni/coli bakteriologisch untersucht. Tabelle 27 zeigt das negative Ergebnis dieser Untersuchung. Aus dieser Herde wurden die Küken des Betriebes A (Tabelle 11 bis 14) erbrütet.

Tabelle 27: Stichprobenuntersuchung auf C.jejuni/coli bei Mastelterntieren

Mastelterntiere	Untersuchte Stichprobe	Untersuchungsergebnis C. jej./coli
3 000	200	0

Tabelle 28 zeigt das Ergebnis zusätzlicher Untersuchungen der Blinddärmen auf *C. jejuni/coli* von Wirtschaftsgeflügel, das aus anderen Gründen zur Sektion kam.

Tabelle 28: Untersuchung von Blinddärmen (Geflügel) aus Sektionsmaterial zur Erfassung der Verbreitung von *C. jejuni/coli*

Geflügelart	Zahl der untersuchten Blinddärme	Zahl der <i>C. jej. coli</i> positiven Blinddärme (%)
Mastküken (insgesamt)	54	10 (18,5)
Mastküken (Alter unter 10 Tagen)	46	0
Legehennen	24	12 (50)
Junghennen	7	0
Mastelterntiere	4	1 (25)
Puten	5	3 (60)
Gans	1	1 (100)
Sektionsgeflügel insgesamt	141	27 (19,7)

4.10 Infektionsversuche

Infektionsversuch 1

Der Infektionsverlauf nach Infektion von Mastkühen am 11. Lebenstag bis zum Schlachttag und die Belastung sowohl der beiden Infektionsgruppen als auch der Kontrollgruppe mit *C. jejuni/coli* werden aus Tabelle 29 ersichtlich.

Tabelle 29: Infektionsversuch 1

Untersuchungs- material	Lebens- tag	Entnah- metag nach In- fektion	Zahl der untersuchten Proben/ Zahl der <i>C.jej./coli</i> pos.Proben			
			Gruppe I 25 Tiere Infektion 1×10^3 / Tier	Gruppe II 25 Tiere Kontroll- gruppe	Gruppe III 25 Tiere Infektion 4×10^3 / Tier	Gruppe IV 25 Tiere Kontroll- gruppe
Kloaken- tupfer	11	0				25/0 *
	14	3	14/14	14/5	14/14	
	21	10	14/14	14/14	14/14	
	28	17	14/14	14/14	14/14	
	35	24	14/14	14/14	14/14	
Blinddärme	42	31	12/12	12/12	12/12	
Kloakentupfer			12/12	12/12	12/12	
Dünndärme			12/12	12/12	12/12	
Lebern			21/8	25/9	24/18	
Muskulatur			21/1	25/5	24/5	

* = wurde nach der Kontrolluntersuchung geschlachtet.

Die aus Verdünnungsreihen ermittelten *C. jejuni/coli* - Keimzahlen in Blinddärmen, Dünndärmen und Lebern aus Infektionsversuch 1 werden aus Tabelle 30 ersichtlich.

Tabelle 30: Untersuchungen über das quantitative Vorkommen von *C. jejuni/coli* in Blinddarm, Dünndarm und Leber aus Infektionsversuch 1

Untersuchungsmaterial	Keime / g Probenmaterial		
	Gruppe I 1×10^9 /Tier Infektion	Gruppe II Kontrollgruppe	Gruppe III 4×10^3 /Tier Infektion
Blinddarm	$1,2 \times 10^8$	$2,4 \times 10^8$	$4,4 \times 10^8$
	$3,2 \times 10^8$	$1,0 \times 10^6$	$4,8 \times 10^8$
	$3,6 \times 10^8$	$7,0 \times 10^6$	$7,0 \times 10^7$
	$6,0 \times 10^8$	$2,0 \times 10^7$	$2,2 \times 10^8$
	$4,0 \times 10^8$	$3,2 \times 10^7$	$3,6 \times 10^8$
Dünndarm	$3,0 \times 10^4$	$1,0 \times 10^5$	$3,0 \times 10^5$
	$6,0 \times 10^3$	$2,0 \times 10^4$	$2,0 \times 10^5$
	$1,0 \times 10^5$	$4,0 \times 10^4$	$4,0 \times 10^4$
	$1,0 \times 10^4$	Ø	$6,0 \times 10^4$
	$1,0 \times 10^5$	$2,0 \times 10^5$	$9,0 \times 10^4$
Leber	Ø	$1,0 \times 10^2$	$4,0 \times 10^3$
	Ø	$2,0 \times 10^2$	$5,0 \times 10^3$
	$2,7 \times 10^3$	$1,8 \times 10^3$	$1,0 \times 10^2$
	Ø	$1,0 \times 10^3$	$1,5 \times 10^2$
	Ø	Ø	Ø

Infektionsversuch 2

Der Infektionsverlauf nach Infektion von Mastkücken am dritten Lebenstag bis zum 36. Lebenstag und die Belastung der Organe bei der Schlachtung beider Infektionsgruppen und beider Kontrollgruppen sind Tabelle 31 zu entnehmen.

Tabelle 31: Infektionsversuch 2

Untersuchungs- material	Lebens- tag	Entnah- metag nach In- fektion	Zahl der unters.Pr./Zahl der C.pos.Pr.			
			Gruppe V	Gruppe VI	Gruppe VII	Gruppe VIII
			6 x 10 ⁷ /Tier Infektion		Kontrolle	
Kloaken- tupfer	3	0	10/0	n.u.	n.u.	10/10
	8	4	24/0	25/1	25/0	25/0
	15	11	24/23	25/25	25/22	25/0
	22	18	22/22	25/25	25/25	23/23
	29	25	11/11	12/12	12/12	11/11
Blinddärme	36	32	10/10	n.u.	n.u.	10/10
Dünndärme			10/8	n.u.	n.u.	10/9
Lebern			10/5	n.u.	n.u.	10/2
Muskulatur			22/1	22/1	24/1	22/0

Tabelle 32 zeigt das quantitative Vorkommen von *C. jejuni/coli* in Blinddarm und Leber einer infizierten Gruppe und einer Kontrollgruppe aus Infektionsversuch 2.

Tabelle 32: Untersuchungen über das quantitative Vorkommen von *C. jejuni/coli* in Blinddarm und Leber aus Infektionsversuch 2

Untersuchungsmaterial	Keime / g Probenmaterial	
	Gruppe I	Gruppe IV
Blinddarm	$3,6 \times 10^8$	$1,8 \times 10^7$
	$3,0 \times 10^8$	$4,1 \times 10^8$
	$3,3 \times 10^8$	$4,0 \times 10^8$
	$2,7 \times 10^8$	$2,5 \times 10^8$
	$9,0 \times 10^7$	$1,9 \times 10^8$
Leber	- *	-
	-	-
	$1,0 \times 10^3$	-
	$2,7 \times 10^3$	-
	$4,0 \times 10^3$	+ **

* = im Direktausstrich negativ

** = im Direktausstrich *Campylobacter jejuni/coli* positiv

Eine weitere Studie zur Ausbreitung von *C. jejuni/coli* wurde im Rahmen des Infektionsversuches 2 an Einstreuproben durchgeführt. Aus jedem Abteil wurden am 19. Masttag an vier verschiedenen Stellen Einstreuproben und eine Tränkwasserprobe entnommen und qualitativ auf *Campylobacter* untersucht. Eine weitere quantitative Untersuchung der Einstreuproben aus jedem Abteil wurde am 23. und am 36. Lebenstag vorgenommen. Die Ergebnisse sind Tabelle 33 zu entnehmen.

Tabelle 33: Qualitative und quantitative Untersuchung der Einstreuproben auf *C. jejuni/coli* im Rahmen des Infektionsversuches 1

		C. jej./coli positive Proben bzw. C. jej./coli / g Einstreu			
Entnahmetag	Zahl der untersuchten Einstreuproben	Gruppe V	Gruppe VI	Gruppe VII	Gruppe VIII
19. Masttag	16	4	4	4	4
23. Masttag	4	$8,0 \times 10^5$	$1,2 \times 10^6$	$6,5 \times 10^5$	$3,0 \times 10^5$
36. Masttag	4	$7,0 \times 10^4$	$4,0 \times 10^4$	Ø	$1,0 \times 10^3$

Alle vier Tränkwasserproben, untersucht am 19. Masttag, waren *C. jejuni/coli* positiv.

4.11 Histologische Untersuchungen der Versuchstiere aus Infektions-
versuch 1 und 2

Die histologische Untersuchung im Rahmen des 1. Infektionsversuches erbrachte folgende Ergebnisse:

Bei allen fünf untersuchten Tieren aus Gruppe I, die oral mit 1×10^9 C. jejuni/coli/Tier am 11. Lebenstag infiziert wurden, war in Duodenum, Jejunum und Ileum die Mitoserate geringgradig bis stark erhöht. Einzelne Epithelzellen waren pyknotisch, die Submukosa war geringgradig mit heterophilen Granulozyten und einzelnen Plasmazellen infiltriert.

Je fünf Untersuchungsproben von Duodenum, Jejunum und Ileum der Gruppe II (Kontrollgruppe) und der Gruppe III (Infektion am ersten Lebenstag mit 4×10^3 C. jejuni/coli/Tier) zeigten keine pathologischen Veränderungen.

Im Rahmen des zweiten Infektionsversuches zeigten Duodenum-, Jejunum- und Ileumproben aus Gruppe V (Infektion am dritten Lebenstag mit 6×10^2 Keimen/Tier) von zehn Tieren außer vereinzelt hyperämischen Bezirken keine Veränderungen. Duodenum-, Ileum- und Jejunumproben von zehn Tieren der Gruppe VIII (Kontrollgruppe) zeigten keine Abweichungen von der Norm.

5. Diskussion

Die Vorversuche zur Effektivität der Nährböden zeigen, daß der Selektivnährboden nach Butzler die geringste Isolationsrate von *C. jejuni/coli* ergab. Mit den Nährböden nach Blaser et al. (1979b) bzw. Skirrow (1977) konnten in diesen Untersuchungen um nahezu 20% häufiger *C. jejuni/coli* nachgewiesen werden (Tabelle 1). Bolton et al. (1983) wiesen im Vergleich mit vier anderen Nährböden ebenfalls mit dem Selektivagar nach Butzler seltener *C. jejuni/coli* nach als mit den Nährböden nach Skirrow und Blaser. Auch Wang et al. (1980) bevorzugten den Selektivagar nach Blaser.

Die während der gesamten eigenen Untersuchungen parallel benutzten Nährböden nach Blaser et al. (1979b) und Skirrow (1977) zeigten, daß der Nährboden nach Blaser eine stärkere Hemmwirkung auf die Begleitflora hatte als der nach Skirrow.

Tabelle 4 zeigt die deutliche Verbesserung der Isolierungsrate bei Verwendung des Transportmediums nach Cary und Blair (1964). Dies trifft für Untersuchungen sowohl nach unterschiedlich temperierter als auch nach verlängerter Lagerung zu.

Die Verwendung einer Anreicherungsbouillon nach Bokkenheuser und Barot (1984) ergab dagegen in den eigenen Untersuchungen keinen zusätzlichen Effekt.

Tabelle 5 bestätigt zusätzlich die Temperaturlabilität von *C. jejuni/coli* bei 20°C-Lagerung von Plattenkulturen im Vergleich zur Lagerfähigkeit derselben Stämme bei 4°C bis zu sechs Tagen.

Bei dem Vergleich zum Einfluß verschiedener Gasgemische - "Gas - Generating - System": 10% CO₂, 5% O₂ und 85% N₂; Begasungsbrutschrank: 10% CO₂, 10% O₂ und 80% N₂ - und unterschiedlicher Bebrütungstemperaturen von 37°C und 43°C ergaben sich nur unwesentliche Unterschiede (Tabelle 1 und 2). Für die umfangreichen Untersuchungen dieser Arbeit wurde wegen arbeitstechnischer Vorteile der Begasungsbrutschrank und eine Temperatur von 43°C gewählt.

60 Feldisolate von Broilern wurden nach ihrem Vermögen Hippurat zu spalten, H_2S zu bilden und nach ihrer Empfindlichkeit gegenüber Nalidixinsäure in fünf Gruppen eingeteilt (Tabelle 7). Danach spalteten 45 dieser Isolate Hippurat, 36 bildeten H_2S , 52 waren gegenüber Nalidixinsäure sensibel und nur acht Stämme verhielten sich gegenüber Nalidixinsäure resistent. Nach diesem Verhalten ließen sich von diesen 60 Isolaten nur 37 (61,7%) nach dem Schema von Skirrow und Benjamin (1980b) (s. Punkt 2.5) typisieren. 20 der so eingeordneten Stämme (33,3%) entsprachen *C. jejuni* Biotyp 1, 17 (28,3%) entsprachen *C. jejuni* Biotyp 2. *C. coli* und NARTC konnten nicht typisiert werden (Tabelle acht). Ähnliche Untersuchungen liegen von Shanker et al. (1983) vor, der von 119 Broilerisolate 82% als *C. jejuni* Biotyp 1 und 18% als *C. jejuni* Biotyp 2 typisierte. Munroe et al. (1983) fanden in Broilern ebenfalls nur *C. jejuni*. Acuff et al. (1982) und Neill et al. (1984) isolierten aus Geflügel überwiegend *C. jejuni* Biotyp 1.

23 (38,3%) der geprüften Geflügelstämme konnten nicht nach dem genannten Schema von Skirrow und Benjamin (1980b) bestimmt werden.

Die Mehrzahl der nicht typisierten Stämme spalteten Hippurat nicht und waren H_2S positiv, so daß sie weder den Biotypen von *C. jejuni* (Hippurat positiv), noch *C. coli* (H_2S negativ) zugeordnet werden konnten. Die Empfindlichkeit dieser Stämme gegenüber Nalidixinsäure ließ eine Typisierung als NARTC - Stämme ebenfalls nicht zu. Neill et al. (1984) beriefen sich ebenfalls auf das Schema von Skirrow und Benjamin (1980b) und berichtete über atypische *Campylobacter* - Stämme von Broilern, die Hippurat spalteten und resistent gegenüber Nalidixinsäure waren. Diese Stämme entsprachen unseren typisierten Gruppen vier und fünf in Tabelle sieben.

Bei der Prüfung des Resistenzverhaltens von 50 Feldisolaten von Broilern zeigten sich in vitro gegenüber Chloramphenicol und Neomycin keine Resi-

stensen, gegenüber Gentamycin, Furazolidon, Nalidixinsäure und Polymyxin B erwiesen sich nur wenige Stämme resistent. Die höchsten Resistenzquoten wiesen die Stämme mit 72% gegenüber Penicillin und mit 48% gegenüber Trimethoprim/Sulfamethoxazol auf. Die übrigen geprüften antibiotisch wirksamen Substanzen waren in 16 - 24% der Fälle gegenüber *C. jejuni/coli* unwirksam (Tabelle 9).

Weber et al. (1984) ermittelten bei aus Schweinekot isolierten *C. jejuni/coli* Stämmen mit nahezu 100% empfindlichen Stämmen gegenüber Chloramphenicol, Gentamycin, Furazolidon und Nalidixinsäure ähnliche Verhältnisse, wie sie in den eigenen Untersuchungen bei Geflügelisolaten gefunden wurden. Die Resistenzquote seiner Stämme gegenüber Penicillin betrug 75%. Severin (1978) berichtete von empfindlichen *C. jejuni/coli* - Stämmen, isoliert von Menschen, gegenüber Chloramphenicol, Tetracyclin, Erythromycin, Furazolidon und Nalidixinsäure. Bruce et al. (1977) überprüften 153 Geflügelisolate und 79 Isolate von Menschen. Alle Stämme waren gegenüber Trimethoprim resistent und alle gegenüber Erythromycin empfindlich. Erythromycin wird in der Humanmedizin als gut wirksame Substanz gegenüber *C. jejuni/coli* angegeben (Weber 1982; Oosterom 1980). Nach Horbach (1983) treten jedoch zunehmend Erythromycin resistente Stämme auf, was unsere Ergebnisse und die von Weber et al. (1984) bestätigen. Unsere Resistenzquote gegenüber Erythromycin betrug 16%, die von Weber et al. (1984) 60%.

Die Ergebnisse des Nachweises von *C. jejuni/coli* mittels direkter Immunofluoreszenz (Tabelle 10) zeigen eine weitgehende Übereinstimmung zur kulturellen Anzüchtung. In den Blinddärmen von Mastküken bis zu einem Alter von zehn Tagen und bei geschlachteten Broilern wurde mit der Immunofluoreszenz eine höhere Nachweisrate erzielt. Mit dieser Methode gelang es, mit einem Zeitaufwand von wenigen Stunden *C. jejuni/coli* sicher nachzuweisen. Damit wurde gezeigt, daß mit der Immunofluoreszenz ein schnelles und spezifisches Nachweisverfahren für zukünftige Screening- und Verfolgsuntersu-

chungen möglich ist. Abgesehen vom Aufwand der Hyperimmunserum- und Konjugat - Herstellung reduziert die Immunofluoreszenz die relativ hohen Kosten der Nährmedien für bakteriologische Untersuchungen. Die mit dieser Technik geringfügig erhöhte Nachweisrate erklärt sich durch die Sichtbarmachung einzelner *C. jejuni/coli* - Keime, deren Antigenität noch erhalten, deren Vermehrungsfähigkeit jedoch eventuell nicht mehr vorhanden war. Des weiteren kann der Nachweis in der kulturellen Anzucht beeinträchtigt sein durch andere Bakterienarten, durch die *C. jejuni/coli* - Kolonien überwuchert werden. Ähnlich erhöhte Isolierungs-Raten mittels der Immunofluoreszenz beobachtete Wiedemann (1981) bei der Diagnose von *Aeromonas salmonicida*.

Das in dieser Arbeit für die Immunofluoreszenz eingesetzte Hyperimmunserum wurde mit einem Pool aus drei *C. jejuni/coli* - Stämmen vom Geflügel hergestellt. Unter Berücksichtigung der bei *C. jejuni/coli* bekannten 22 bzw. 23 (Smibert 1984), nach Weber (1982) über 50 verschiedenen Serotypen ist eine noch höhere Ausbeute mit der Immunofluoreszenz zu erwarten, wenn die Hyperimmunserumherstellung auf einer breiteren Antigenbasis erfolgt.

Von insgesamt 24 vom ersten Lebenstag bis in die Schlachtereie untersuchten Herden aus sechs Betrieben waren 13 Herden (54,16%) aus vier Betrieben *C. jejuni/coli* positiv. Diese Nachweisraten entsprechen den Untersuchungen von Goren und de Jong (1980), der von 89 Herden 41,6% als *C. jejuni/coli* positiv befand. Neill et al. (1984) ermittelten von 12 untersuchten Herden neun als positiv, bei Shanker et al. (1982) waren drei von vier Broilerherden *C. jejuni/coli* kontaminiert. Der früheste Zeitpunkt, an dem in den untersuchten Herden *C. jejuni/coli* isoliert werden konnte, war der 12. Masttag in Herde sechs, Betrieb A (Tabelle 13). Der späteste Zeitpunkt, an dem zum ersten Mal der Keim in einer Herde isoliert werden konnte, war der 35. Masttag in der Herde drei von Betrieb B (Tabelle 15).

Auch andere Autoren konnten in Broilerbeständen erst nach der zweiten Lebenswoche (Neill et al. 1984) bzw. nach 12 Tagen (Smitherman et al. 1984) *C. jejuni/coli* nachweisen. Die Zahl der *C. jejuni/coli* kontaminierten Tiere in den Herden stieg in unseren Felduntersuchungen zwischen zwei Unter-

suchungsterminen schnell an. Die gleich schnelle Ausbreitungstendenz, wie von Neill et al. (1984) beschrieben, wurde auch bei den eigenen Verfolgsuntersuchungen erkennbar. So konnte ein Anstieg der *C. jejuni/coli*-Kontamination in einzelnen Herden von 0% auf 100% innerhalb von zwei Wochen beobachtet werden (Tabelle 11, 12). Neill et al. (1984) führen diese schnelle horizontale Ausbreitung des Keimes auf die im Laufe der Mast nasser werdende Einstreu zurück.

Bei allen diesen Verfolgsuntersuchungen waren Zusammenhänge zwischen *Campylobacter* - Infektion und reduzierter Mastleistung bzw. Futterverwertung nicht erkennbar.

C. jejuni/coli kontaminierte Herden kamen mit nahezu 100% iger Infektion in die Schlachtereie. Diese hohe Kontamination wurde dann auch in den weitgehend 100% *C. jejuni/coli* positiven Darminhalten, Hautproben und Lebern erkennbar. Die untersuchten Muskelproben blieben auch bei diesen hochbelasteten Tieren *C. jejuni/coli* frei. Blieb eine Herde während der gesamten Verfolgsuntersuchung *C. jejuni/coli* frei, war sie auch in der Schlachtereie frei von diesem Keim. Hartog et al. (1983), die aus 15 verschiedenen Schlachtereien an verschiedenen Tagen Proben entnahmen, berichteten von hohen *C. jejuni/coli* Kontaminationen und von *C. jejuni/coli* freien Untersuchungen. Die gleichen Autoren sprechen in diesem Zusammenhang von hoher Kontamination des gesamten Schlachtmilieus, wenn *C. jejuni/coli* positive Herden geschlachtet wurden.

Zur Frage der Kontamination der Broilerherden mit *C. jejuni/coli* sind verschiedene Wege zu diskutieren. Der Weg der Eiübertragung von *C. jejuni/coli* konnte weder mit positiven Ergebnissen bei Eintagsküken (Tabelle 15, 16, 17) im Rahmen der Verfolgsuntersuchungen, noch bei Untersuchungen von Mekoniumproben bestätigt werden (Tabelle 10, 11 - 14; 17 - 21). Auch die stichprobenartige Untersuchung von 200 Mastelterntieren anlässlich der Schlachtung dieser Tiere verlief negativ, obgleich Küken aus dieser Herde im Verlauf der Mast *C. jejuni/coli* belastet waren. Trotz dieser negativen Ergebnisse könnte die Eiübertragung einen Infektionsweg darstellen. Wenn die Infektionsrate der Elterntiere oder Eintagsküken sehr gering ist, kann sie mit den hier untersuchten Stichproben nicht erfaßt werden. So konnte Doyle (1984) zwar bei der Untersuchung von 226 Eiern keinen *C. jejuni/*

coli im Eihalt nachweisen, aber bei zwei Eiern fand er auf der Oberfläche *C. jejuni/coli*.

Die Infektion der Broilermastbestände mit *C. jejuni/coli* aus der Umwelt wird von Neill et al. (1984) diskutiert. Über Vögel kontaminierte Abwässer und Futter, sowie Personal und Luft werden als Vektoren für *C. jejuni/coli* genannt. Acuff et al. (1982) zieht Ratten, Katzen und Hunde als Überträger in Betracht.

Zum quantitativen Vorkommen von *C. jejuni/coli* wurden Blinddärme und Hautproben untersucht. Die Hautproben wurden am Schlachtende vom verpackungsfertigen Hähnchen entnommen. Wie aus Abbildung 1 erkennbar wird, lagen die Keimzahlen in kontaminierten Herden zu 90% bei 10^7 und 10^8 Keimen/g Blinddarminhalt. Die geringsten Keimzahlen je Gramm Blinddarminhalt betrugen 10^5 Keime/g. Auf der Brusthaut der Hähnchen betrugen die *C. jejuni/coli* Zahlen je Gramm Haut zwischen 62 und 666 Keimen (Tabelle 22). Pro cm^2 Brusthaut lagen die *Campylobacter* Zahlen zwischen sechs und 62 Keimen. Die hohen Keimzahlen im Darminhalt könnten die schnelle horizontale Ausbreitung einer *C. jejuni/coli* Infektion in ausscheidenden Herden erklären. Andere Autoren fanden zwischen 10^4 und 10^6 *C. jejuni/coli* je Gramm Darminhalt und zwischen 10^2 und 10^3 Keimen je Gramm Kloakenhaut (Oosterom et al. 1983; Grant und Richardson 1980).

Der Einfluß der Tiefkühlagerung bei -20°C auf *C. jejuni/coli* wurde an Blind- und Dünndarminhalt, an Hautproben und Lebern untersucht. Bei Blinddärmen konnte nach 15 Tagen Tiefkühlagerung eine Reduktion der positiven Proben um über 60%, nach 12 wöchiger Lagerung um 50% nachgewiesen werden. Aus fünf *C. jejuni/coli* positiven Dünndärmen waren die Erreger nach 12 wöchiger Tiefkühlagerung nicht mehr nachweisbar. Von 65 *C. jejuni/coli* positiven Hautproben konnten nach 12 Wochen Lagerung bei -20°C nur noch aus drei Hautproben *C. jejuni/coli* isoliert werden. Sechs *Campylobacter* - positive Lebern waren nach 12 Wochen Tiefkühlagerung frei von diesem Keim (Tabelle 23 und 25). Die in Tabelle 24 dargestellte quantitative Er-

fassung der *C. jejuni/coli* Reduktion zeigt eine Verminderung um zwei bis sechs Zehnerpotenzen der ursprünglich im Darminhalt vorhandenen *Campylobacter* Keime nach 12 wöchiger Lagerung bei -20°C . Auf den *Campylobacter* - reduzierenden Effekt durch den Gefrierprozeß wurde von Luechtefeld et al. (1981), Hänninen (1982), Hartog et al. (1981), Oosterom et al. (1983b) und Stern et al. (1984) hingewiesen. Auf das Restrisiko einer menschlichen *Campylobacter*-Infektion durch kontaminierte Lebensmittel trotz Einfrierung der Produkte weist Oosterom et al. (1983b) hin. Die wenigen überlebenden *C. jejuni/coli* Keime, so die Autoren, stellten eine Gefahr für den Menschen dar. Das Überleben einiger infektiösfähiger *Campylobacter*-Keime trotz Einfrierung und Auftauprozess sollte angesichts der nicht unerheblichen Pathogenität dieser Keime für den Menschen beim Umgang mit kontaminierten Geflügelprodukten beachtet werden.

Bei den im Rahmen dieser Untersuchungen durchgeführten Infektionsversuchen wurden insgesamt sieben Broiler-Versuchsgruppen vom ersten Lebenstag bis zur Schlachtung mit regelmäßigen bakteriologischen Untersuchungen kontrolliert. Die Infektionen wurden mit unterschiedlichen *C. jejuni/coli* - Dosen zwischen 10^2 und 10^9 Keimen/Tier vorgenommen. Während im ersten Infektionsversuch alle Tiere der Infektionsgruppe, unabhängig von der Infektionsdosis, am dritten Tag nach der Infektion als Ausscheider ermittelt wurden, schieden die im weiteren Infektionsversuch infizierten Tiere am vierten Tag nach der Infektion mit einer Ausnahme *C. jejuni/coli* noch nicht aus. Die Infektion wurde im ersten Versuch am 11. Lebenstag und im zweiten Versuch am dritten Lebenstag vorgenommen. Die verzögert angehende Infektion am dritten Lebenstag könnte durch das Vorhandensein maternaler Antikörper bedingt sein. Das schnelle Übergreifen der Infektion auf die nicht infizierten Kontrollgruppen wird besonders beim ersten Infektionsversuch deutlich. Bereits am dritten Tag nach der Infektion war die Kontrollgruppe zu 30% *C. jejuni/coli* infiziert, am zehnten Lebenstag zu 100%. Die bakteriologischen Untersuchungsergebnisse der geschlachteten Versuchstiere zeigen eine nahezu durchgehende 100% ige Kontamination der Därme mit *C. jejuni/coli* Zahlen zwischen 10^6 und 10^8 Keimen / g Kot in den

Blinddärmen und 10^3 bis 10^5 Keime/g Kot in den Dünndärmen. Ein geringerer Prozentsatz an positiven Ergebnissen mit Keimzahlen zwischen 10^2 und 10^3 Keimen/g wurde bei den Lebern nachgewiesen. Die deutlich geringer kontaminierten Muskulaturen in beiden Infektionsversuchen weisen auf eine überwiegend darmspezifische Kontamination mit geringer Ausbreitungstendenz im Gesamtorganismus hin. Klinische Erscheinungen und erhöhte Mortalität konnten in beiden Infektionsversuchen nicht beobachtet werden. Die Mastleistung und Futterverwertung konnten in den experimentellen Infektionsversuchen nicht bewertet werden.

Die bei der histologischen Untersuchung in Gruppe I des Infektionsversuches eins (Punkt 4.11) gefundenen Veränderungen deuten auf eine weitgehend überstandene Darmentzündung hin. Da trotz guter klinischer Beobachtung keine Darmerkrankung während der gesamten Lebenszeit erkennbar war, ist nicht auszuschließen, daß diese Veränderungen Folge der sehr hohen Infektionsdosis (1×10^9 /K/Tier) zu Versuchsbeginn sind. Da zum Zeitpunkt der histologischen Untersuchungen die Infektion schon drei Wochen zurücklag, können die histologischen Befunde möglicherweise jedoch auch die Folge versuchsunabhängiger Einflüsse sein.

Klinische Erscheinungen traten weder bei den Masttieren in den Verfolgsuntersuchungen noch bei den Versuchstieren auf. *Campylobacter jejuni/coli* scheint für das Mastgeflügel ohne pathogene Bedeutung zu sein. Ob *Campylobacter jejuni/coli* zur physiologischen Darmflora beim Mastgeflügel gerechnet werden muß oder ob der Keim unter bestimmten Umständen, z.B. durch eine Darm-Floraverschiebung, pathogene Eigenschaften entwickeln kann, ist mit den hier durchgeführten Untersuchungen nicht abschließend zu beurteilen.

6. Zusammenfassung

1. In den in dieser Arbeit durchgeführten Verfolgsuntersuchungen waren von insgesamt 24 vom ersten Lebenstag bis in die Schlachtereie untersuchte Broilerherden aus sechs Mastbetrieben 13 Herden (54,16%) aus vier Betrieben *Campylobacter jejuni/coli* positiv.

2. Der früheste Zeitpunkt, an dem zum ersten Mal der Keim aus einer Herde isoliert werden konnte, war in einer Herde der 12. Masttag, der späteste Zeitpunkt des Auftretens von *Campylobacter jejuni/coli* in einer Herde war der 35. Masttag.

3. Die Kloakentupfer, die kurz vor der Schlachtung bei den 13 Herden stichprobenweise entnommen wurden, waren mit einer Ausnahme zu über 50% mit *Campylobacter jejuni/coli* kontaminiert.

4. 98 (81,66%) der 120 im Rahmen der Schlachtung der *Campylobacter jejuni/coli* positiven Herden entnommenen Blinddärme, 145 (80,55%) der 180 entnommenen Hautproben, 26 (86,66%) der 30 Lebern und keine der 50 Muskulaturproben waren mit *Campylobacter jejuni/coli* kontaminiert. In den "Campylobacter - freien" Herden wurden auch bei der Schlachtung, kontrolliert an über 260 Blinddärmen und 265 Hautproben, *Campylobacter jejuni/coli* nicht nachgewiesen.

5. 450 Blinddärme von willkürlich ausgesuchten Betrieben zeigten eine *Campylobacter jejuni/coli* Kontamination von 47,8%.

6. Bei Untersuchungen zum quantitativen Vorkommen von *Campylobacter jejuni/coli* konnten in Blinddärmen bis zu 10^8 Keimen je Gramm Kot und auf der Brusthaut von frischen Broilern 62 bis 666 Keime je Gramm Haut ermittelt werden.

7. Der Einfluß der -20°C - Tiefkühlagerung auf *Campylobacter jejuni/coli* wurde an Blind- und Dünndarminhalt, an Hautproben und Lebern untersucht. Es konnte eine Dekontaminationsrate von 50% - 100% festgestellt werden, die quantitative Untersuchung ergab eine Verminderung im Darminhalt um zwei bis sechs Zehnerpotenzen. Bei Lagerung im Bereich von 2 - 4°C für die Dauer von neun Tagen wird die Keimzahl nur unwesentlich reduziert.

8. Die Immunofluoreszenz ist ein zeitsparendes Verfahren zum Nachweis von *Campylobacter jejuni/coli* aus dem Darminhalt bei Verfolgsuntersuchungen. Die Nachweisrate bei der Immunofluoreszenz betrug bei 40 untersuchten Blinddärmen 95%. Die vergleichende bakteriologische Untersuchung erbrachte 92,5% positive Befunde.

9. Die Verwendung von Transportmedium und Kühlagerung beim Proben transport oder -versand erhöht die Rückisolierungsrate von *Campylobacter jejuni/coli*.

10. Nur 37 (61,66%) der 60 typisierten Feld-Isolate ließen sich in das Schema von Skirrow und Benjamin (1980b) einordnen. 20 (33,3%) der so eingeordneten Stämme entsprachen *Campylobacter jejuni* Biotyp 1, 17 (28,3%) entsprachen *Campylobacter jejuni* Biotyp 2. *Campylobacter coli* und NARTC konnten nicht typisiert werden. 23 (38,3%) dieser geprüften Geflügelstämme ließen sich in dieses Schema nicht einordnen.

11. 50 Geflügelisolate wurden auf ihre Empfindlichkeit gegen folgende Antibiotika mit unterschiedlichem Ergebnis untersucht: Chloramphenicol, Neomycin, Gentamycin, Furazolidon, Nalidixinsäure und Polymyxin B, Erythromycin, Tetracyclin, Ampicillin, Tylosin, Streptomycin, Penicillin und Trimethoprim / Sulfamethoxazol.

12. In zwei Versuchen mit insgesamt acht Versuchsgruppen wurden vier Versuchsgruppen mit unterschiedlichen *Campylobacter jejuni/coli* - Dosen in unterschiedlichem Alter infiziert. Die Infektion zeigte eine schnelle Ausbreitung, besonders bei den Küken, die im Alter von 11 Tagen infiziert wurden. Die Infektion der im Alter von drei Tagen infizierten Tiere verlief verzögert.

Incidence and distribution of campylobacter jejuni/coli in broiler production

Summary:

1. Of the total of 24 broiler flocks from six fattening operations which were surveyed from day of birth until slaughter for purposes of this thesis, 13 flocks (54,16%) from four operations were contaminated with campylobacter jejuni/coli.
 2. The earliest point in time at which the bacteria could be isolated from any given flock, was the 12th day of feeding in one case, the latest evidence of campylobacter jejuni/coli was found in another flock on the 35th day.
 3. Test with cloacal swabs performed at random with the 13 flocks immediately before slaughtering, showed, with one exception, a contamination with campylobacter jejuni/coli of over 50%.
 4. Of the 120 caecal samples taken from campylobacter jejuni/coli infected flocks during slaughtering, 98 (or 81,66%) were contaminated with campylobacter jejuni/coli, as well as 145 (80,55%) of the 180 skin samples taken, 26 (86,66%) of the 30 liver samples and none of 50 samples of muscle tissue.
- Regarding the flocks identified as "free of campylobacter" also after slaughtering no evidence of campylobacter jejuni/coli could be found after inspection of 260 caecal samples and 265 skin samples.
5. 450 additional caecal samples, taken from various fattening operations at random, showed a campylobacter jejuni/coli contamination of 47,8%.
 6. Quantitative investigations resulted in a count of campylobacter jejuni/coli of up to 10^8 units per gram of caecal content; skin taken from the breasts of freshly slaughtered broilers showed a count of between 40 and 666 campylobacter jejuni/coli bacteria per gram of skin.

7. The influence of deep freeze storage at -20°C on campylobacter jejuni/coli was investigated using caecal and jejunal contents, skin samples and livers. A rate of decontamination was observed of between 50% and 100%, and quantitative research showed a count reduction in intestinal contents of between 10^2 to 10^6 . Storage for nine days at 2°C to 4°C reduces bacteria count only insignificantly.

8. Immunofluorescence is a time - saving method for the verification of campylobacter jejuni/coli in intestinal contents during followup research. Using immunofluorescence, the detection rate was 95% out of a sample of 40 caeca, where as a comparative bacteriological survey showed a degree of contamination of 92,5%.

9. The use of a transport medium and cold storage during the transportation of shipping of samples increases the rate of re-isolation of campylobacter jejuni/coli.

10. Only 37 (61,66%) of the 60 typed field isolates could be classified according to the criteria of Skirrow and Benjamin (1980 b). 20 (33,3%) of the thus classified strains were equivalent to campylobacter jejuni biotype 1; 17 (28,3%) corresponded to campylobacter jejuni biotype 2. Campylobacter coli and NARTC could not be found. 23 (38,33%) of the surveyed avian strains could not be classified in accordance with the above criteria.

11. 50 avian isolates were tested for sensitivity against the following antibiotics with varying results: chloramphenicol, neomycin, gentamicin, furazolidone, nalidixic acid and polymyxin b, erythromycin, tetracycline, ampicillin, tylosin, streptomycin, penicillin and trimethoprim/sulfamethoxazole.

12. Of the total of eight test groups four test groups of varying ages were infected with various doses of campylobacter jejuni/coli in two experiments. Infection spread rapidly, specifically in chicks which were infected at the age of 11 days. In chicks contaminated at the age of three days, infection was retarded.

Incidencia y distribución de Campylobacter jejuni/coli en la producción de pollos de engorde

Resumen:

1. Se controló en este trabajo un total de 24 planteles broileros examinando los pollos desde el primer día hasta el día de faena por su contaminación con Campylobacter jejuni/coli, de los cuales 13 eran positivos.
2. La fecha del primer aislamiento de Campylobacter jejuni/coli fluctuó en los distintos planteles entre el día 12 y 35 de vida.
3. En un muestreo al azar de los 13 planteles contaminados más de 50% de las torulas de cloaca eran contaminados con Campylobacter jejuni/coli excepto un plantel con contaminación menor.
4. Durante las faenas en el matadero se tomaron muestras de ciegos, de piel, de hígado y de musculatura. De los planteles libres de Campylobacter jejuni/coli se encontró ningún caso de contaminación examinando 260 ciegos y 265 muestras de piel. De los planteles contaminados se aislaron Campylobacter jejuni/coli 98 veces (81,66%) de 120 ciegos, 145 veces (80,55%) de 180 muestras de piel, 26 veces (86,66%) de 30 hígados, pero ninguna vez de 50 muestras de musculatura.
5. 450 ciegos obtenidos de planteles elegidos al azar mostraron una contaminación de 47,8% con Campylobacter jejuni/coli.
6. En exámenes cuantitativos los ciegos contuvieron hasta 10^8 germen/g contenido cecal y la piel de la pechuga de pollos recién faendos entre 40 y 660 germen/g piel.
7. Por refrigeración hasta -20°C se disminuyó la tasa de contaminación entre 50% hasta 100%. Por almacenamiento de las muestras en un ambiente de 2 a 4°C por 9 días el número de germen se reduce solo negablemente.

8. La inmunofluorescencia es una técnica rápida para el diagnóstico de *Campylobacter jejuni/coli* en el contenido intestinal. Sus resultados corresponden a los del examen bacteriológico.

9. El uso de un medio de transporte y la refrigeración durante del transporte de muestras favorecen el reaislamiento de *Campylobacter jejuni/coli*.

10. Solamente 37 (61,66%) de los 60 aislamientos de campo de *Campylobacter jejuni/coli* corresponden al esquema de Skirrow y Benjamin (1980 b). 20 (33,3%) de las cepas tipificadas pertenecieron a *Campylobacter jejuni* biotipo 1, 17 (28,3%) a *Campylobacter jejuni* biotipo 2. No se encontraron *Campylobacter coli* ni cepas NARTC. 23 (38,3%) de las cepas aisladas no correspondieron al esquema aplicado.

11. Se examinó la sensibilidad de 50 cepas aviares de *Campylobacter jejuni/coli* con diferentes resultados contra los siguientes antibióticos: cloramfenicol, neomicina, gentamicina, furazolidona, ácido nalidixínico, polimixina B, eritromicina, tetraciclina, ampicilina, tilosina, estreptomina, penicilina, trimetoprim/sulfametoxazol.

12. En dos ensayos se infectaron pollos de diferente edad con un número variante de *Campylobacter jejuni/coli*. La infección tiene una expansión muy rápida especialmente en pollitos infectados a la edad de 11 días. En pollitos infectados a la edad de 3 días el curso de la infección se atrasó.

7. Literaturverzeichnis

- Acuff, G.R. Examination of turkey eggs, poults and
Vanderzant, C. brooder house facilities for *Campylobacter*
Gardner, F.A. *jejuni*
Golan, F.A. J. Food Prot. 14, 1279 - 1281, 1982
- Barot, M.S. Location of *Campylobacter jejuni* in
Mosenthal, A.C. infected chicken livers
Bokkenheuser, V.D. J. of Clin. Microbiol. 5, 921 - 922, 1983
- Blaser, M.J. *Campylobacter jejuni* and food
Food Technol. März 1982, 89 - 92, 1982
- Blaser, M.J. *Campylobacter enteritis* associated with
Cravens, J. unpasteurized milk
Powers, B.W. Am. J. Med. 67, 715 - 718, 1979a
Laforce, F.M.
Wang, W. -L.L.
- Blaser, M.J. *Campylobacter enteritis*:
Berkowitz, I.D. Clinical and epidemiologic features
Laforce, F.M. Ann. Intern. Med. 91, 179 - 185, 1979b
Cravens, J.
Reller, L.B.
Wang, W. -L.L.

- Blaser, M.J. Isolation of *Campylobacter fetus* subsp.
Glass, R.I. jejuni from Bangladeshi children
Huq, M.I. J. Clin. Microbiol. 12, 744 - 747, 1980
Stoll, B.
Kibriya, G.M.
Alim, A.R.M.A.
- Blaser, M.J. *Campylobacter enteritis*
Reiler, L.B. New. Engl. J. Med. 10, 1444 - 1452, 1981
- Bokkenheuser, V. Detection of enteric *Campylobacteriosis* in
Richardson, N.J. children
Bryner, J.H. J. Clin. Microbiol. 9, 227 - 232, 1979
Roux, D.J.
Schutte, A.B.
Koornhof, H.J.
Freiman, I.
Hartman, E.
- Bokkenheuser, V.D. *Campylobacter jejuni* in food products
Barot, M.S. Oxoid "Culture" Vol. 5, No. 1, 1984
- Bolton, F.J. Comparison of selective media for isolation
Coates, D. of *Campylobacter jejuni/coli*
Hinchliffe, P.M. J. Clin. Pathol. 36, 78 - 83, 1983
Robertson, L.
- Bolton, F.J. *Campylobacter* biotyping scheme of epidemio-
Holt, A.V. logical value
Hutchinson, D.N. J. Clin. Pathol. 37, 677 - 681, 1984

- Brouwer, R. An explosive outbreak of *Campylobacter*
Mertens, M.J.A. enteritis in soldiers
Siem, T.H. Antonie van Leeuwenhoek 45, 517 - 519, 1979
Katchaki, J.
- Bruce, D. *Campylobacter* enteritis
Zochowski, W. Br. Med. J. 5, 1219, 1977
Ferguson, I.R.
- Buck, G.E. Evaluation of the Campy Pale II gas
Fojtasek, C. generator system for isolation of *Campylo-*
Calvert, K. bacter fetus subsp. jejuni
Kelly, M.T. J. Clin. Microbiol. 15, 41 - 42, 1982
- Butzler, J.P. Related vibrios in stools
Dekeyser, P. J. Pediatr. 82, 493 - 495, 1973
Detrain, M.
Dehaen, F.
- Butzler, J.P. *Campylobacter* enteritis
Skirrow, M.B. Clin. Gastroenterol. 8, 737 - 765, 1979
- Cary, S.B. A new transport medium for shipment of
Blair, E.L. clinical specimens
J. Bacteriol. 88, 96 - 98, 1964
- Doyle, M.P. A *Vibrio* associated with swine dysentery
Am. J. vet. Res. 5, 3 - 5, 1944

- Doyle, M.P. Campylobacter fetus subsp. jejuni:
an old pathogen of new concern
J. Food Prot. 44, 480 - 488, 1981
- Doyle, M.P. Associated of Campylobacter jejuni with
laying hens and eggs
Appl. Environ. Microbiol. 47, 533 - 536, 1984
- Fletcher, R.D. Difference in physiology of vibrio spp.
Plastridge, W.N. from chickens and man
Avian Dis. 8, 72 - 74, 1964
- George, H.A. Improved media for growth and aeroto-
Hoffman, P.S. lance of Campylobacter fetus
Snibert, R.M. J. Clin. Microbiol. 8, 36 - 41, 1978
Krieg, N.R.
- Gilchrist, M.J.R. Evaluation of media for isolation of
Grewell, C.M. Campylobacter fetus subsp. jejuni from fecal
Washington, J.A. specimens
J. Clin. Microbiol. 14, 393 - 395, 1981
- Gill, K.P.W. The effect of pasteurization on the survival
Bates, P.G. of Campylobacter species in milk
Lander, K.P. Br. vet. J. 137, 578 - 584, 1981
- Görge, M. Untersuchungen zum Vorkommen von Keimen der
Kirpal, G. Gattung Campylobacter beim Schwein Teil I:
Bisping, W. Kulturelle Untersuchungen von Kot, Darminhalt
und Gallenblasen, sowie Infektionsversuche
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 96, 86 - 89, 1983

- Goren, E.
de Jong, W.A.
Campylobacter fetus subspecies jejuni bij
pluimvee
Tijdschr. Diergeneesk, 105, 724 - 726, 1980
- Grant, H.I.
Richardson, N.J.
Bokkenheuser, V.D.
Broiler chickens as potential source of
Campylobacter infections of humans
J. Clin. Microbiol. 11, 508 - 510, 1980
- Hänninen, M.L.
Survival of Campylobacter jejuni/coli in
ground refrigerated and in ground frozen
beef liver and in frozen broiler carcasses
Acta vet. Scand. 22, 566 - 577, 1981
- Hänninen, M.L.
Characterization of Campylobacter jejuni/coli
isolated from different sources.
Acta vet. Scand. 23, 88 - 98, 1982
- Hartog, B.J.
Severin, W.P.J.
de Boer, E.
Epidemiology of campylobacteriosis and
occurrence of Campylobacter fetus subsp.
jejuni in poultry products
In: Quality of poultry meat. Proc. 5 th,
Congress Eur. Fed. of the world Poultry
Association, Apeldoorn, The Netherlands,
425 - 433, 1981
- Hartog, B.J.
de Wilde, G.J.A.
de Boer, E.
Poultry as a Source of Campylobacter jejuni
VIème Symposium / 5. W PSA - Arb. Tagung
Ploufragan / France 17. - 20.05.83

- Kiggins, E.M.
Plastringe, W.N. Effect of gaseous environments on growth
and catalase content of *Vibrio fetus* cultures
of bovine origin
J. Bacteriol. 72, 397 - 400, 1956
- King, E.O. Human infections with *Vibrio fetus* and a
closely related vibrio
J. Infect. Dis. 101, 119 - 128, 1957
- Lander, K.P.
Gill, K.P.W. Experimental infection of the bovine udder
with *Campylobacter coli/jejuni*
J. Hyg. Camb. 84, 421 - 428, 1980
- Lauwers, S.
de Boeck, M.
Butzler, J.P. *Campylobacter enteritis* in Brussels
Lancet 1978/1, 604 - 605, 1978
- Levi, A.
Riccardi, I.D. *Campylobacter jejuni*: isolation and charac-
terization of strains from chickens in Rio
de Janeiro
Rev. de Microbiol. 13, 332 - 334, 1982
- Levy, A.J. A gastroenteritis outbreak probably due
to a bovine strain of vibrio
Yale J. Biol. Med. 18, 243 - 259, 1946
z.n.: Doyle (1981)
- Luechtefeld, N.W.
Wang, W. -L.L. *Campylobacter fetus* subsp. *jejuni* in a
turkey precessing plant
J. Clin. Microbiol. 13, 266 - 268, 1981
- Luechtefeld, N.W.
Wang, W. -L.L.
Blaser, M.J.
Reller, L.B. Evaluation of transport and storage techniques
for isolation of *Campylobacter fetus* subsp.
jejuni from turkey cecal specimens
J. Clin. Microbiol. 13, 438 - 443, 1981

- Manninen, K.I. Pathogenicity of *Campylobacter jejuni*
Prescot, J.F. isolates from animals and humans
Dohoo, I.R. *Inf. and Imm.* 38, 46 - 52, 1982
- Marjai, E. *Campylobacter jejuni* contamination of
Kovats, Z. slaughtered chickens
Kajary, I. *Acta Mikrobiol. Acad. Sci. Hung.* 29,
Horvath, Z. 213 - 215, 1982
- Martin, W.T. Selective enrichment broth medium for
Patton, C.M. isolation of *campylobacter jejuni*
Morris, G.K. *J. Clin. Microbiol.* 17, 853 - 855, 1983
Potter, M.E.
Puhr, N.D.
- Mc Fadyean, J. Report of the departmental committee
Stockman, P. appointed by the Board of Agriculture and
Fisheries to enquire into epizootic abortion
His Majesty's Stationery Office, London 1913
z.n.: Doyle (1981)
- Mc Naughton, R.D. Outbreak of *Campylobacter enteritis* due to
Leyland, R. consumption of raw milk
Mueller, L. *Can. Med. Assoc. J.* 126, 657 - 658, 1982
- Mitscherlich, E. *Campylobacter und Vibrio*
in: H. Blobel und T. Schliesser, *Handbuch*
der bakteriellen Infektionen bei Tieren,
Bd. III, S. 1 - 74, 1981
G. Fischer Verlag, Stuttgart

- | | |
|-------------------------|---|
| Mouton, R.P. | Analysis of small outbreak of Campylobacter |
| Veltkamp, J.J. | infections with high morbidity |
| Lauwers, S. | In: "Campylobacter; Epidemiology, |
| Butzler, J.P. | Pathogenesis and Biochemistry" |
| | (Ed. DaG. Newell) 129 - 134, 1982 |
| | Lancaster: MTP - Press |
| Munroe, D.L. | Campylobacter jejuni and Campylobacter |
| Prescott, J.F. | coli serotypes isolated from chickens, |
| Penner, J.L. | cattle and pigs |
| | J. Clin. Microbiol. <u>18</u> , 877 - 881, 1983 |
| Neill, S.D. | Campylobacter species in broiler chickens |
| Campbell, J.N. | Avian Path. <u>13</u> , 777 - 785, 1984 |
| Greene, J.A. | |
| Oosterom, J. | Infectie met Campylobacter fetus subspecies |
| | jejuni; overzicht van de literatuur en |
| | bespreking van de epidemiologische aspecten |
| | Ned. T. Geneesk. <u>39</u> , 1647 - 1649, 1980 |
| Oosterom, J. | Een explosie van Campylobacter - infectie |
| Beckers, H.J. | in een kazerne, waarschijnlijk veroorzaakt |
| van Noorle Jansen, L.M. | door rauwe tartaar |
| van Schothorst, M. | Net. T. Geneesk. <u>124</u> , 1631 - 1634, 1980 |
| Oosterom, J. | Origin and prevalence of Campylobacter |
| Notermans, S. | jejuni in poultry processing |
| Karman, H. | J. Food Prot. <u>46</u> , 339 - 334, 1983a |
| Engels, G.B. | |

- | | |
|---|---|
| Oosterom, J. | Survival of <i>Campylobacter jejuni</i> during |
| de Wilde, G.J.A. | poultry processing and pig slaughtering |
| de Boer, E. | J. Food Prot. <u>46</u> , 702 - 706, 1983b |
| de Blaauw, L.H. | |
| Karman, H. | |
| | |
| Park, C.E. | Effect of temperature, duration of incubation |
| Stankiewicz, Z.K. | and pH of enrichment culture on the recovery |
| Lovett, J. | of <i>Campylobacter jejuni</i> from eviscerated market |
| Hunt, J. | chickens |
| Francis, D.W. | Can. J. Microbiol. <u>29</u> , 803 - 806, 1983 |
| | |
| Patton, C.M. | Comparison of selective media for primary |
| Mitchel, S.W. | isolation of <i>Campylobacter fetus</i> subsp. <i>jejuni</i> |
| Potter, M.E. | J. Clin. Microbiol. <u>13</u> , 326 - 330, 1981 |
| Kaufmann, A.F. | |
| | |
| Paul-Ehrlich-Gesellschaft
für Chemotherapie e.V.
Arbeitsgemeinschaft
Resistenz | Resistenz klinischer Isolate einiger <i>Enterobacteriaceae</i> sowie <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ,
<i>Staphylococcus aureus</i> und <i>Streptococcus faecalis</i>
gegenüber Chemotherapeutika - Ergebnisse einer
überregionalen kooperativen Studie aus den
Jahren 1980 und 1981
Infection <u>10</u> , 1 - 5, 1982 |
| | |
| Peel, R.N. | The dog is was that died |
| Mc Intosh, A.W. | Lancet 1978/2 1212, 1978 |
| | |
| Peckham, M.C. | Avian vibronic hepatitis |
| | Avian Dis. <u>2</u> , 348 - 358, 1958 |

- Porter, I.A. A milk borne outbreak of *Campylobacter* infection
Reid, T.M.S. J. Hyg. Camb. 84, 415 - 419, 1980
- Ribeiro, C.D. *Campylobacter* enteritis
Lancet 1978/2, 270 - 271, 1978
- Robinson, D.A. *Campylobacter* enteritis associated with
Edgar, W.J. consumption of unpasteurised milk
Gibson, G.L. Br. Med. J. 1979/1, 1171 - 1173, 1979
Matchett, A.A.
Robertson, L.
- Rosef, O. Isolation of *Campylobacter fetus* subsp. *jejuni*
from gallbladder of normal slaughter pigs,
using an enrichment procedure
Acta vet. Scand. 22, 149 - 151, 1981
- Ruiz-Palacios, G.M. Experimental *Campylobacter* Diarrhoe in
Escamilla, E. chickens
Torres, N. Inf. and Imm. 34, 250 - 255, 1981
- Sebald, M. Teneur en bases de L'ADN et classification
Véron, M. des vibrions
Ann. Inst. Pasteur 105, 897 - 910, 1963
- Severin, W.P.J. *Campylobacter* en enteritis
Ned. T. Geneesk. 112, 499 - 504, 1978
- Shanker, S. *Campylobacter jejuni*:
Rosenfield, J.A. Incidence in processed broilers and Biotype
Davey, G.R. distribution in human and broiler isolates
Sorrel, T.C. Appl. Environ. Microbiol. 43, 1219 - 1220, 1982

- Shanker, S. Campylobacter jejuni epidemiology in
Lee, A. broiler production: the reality of
Sorell, T.C. Campylobacter-free flocks
In: Proceedings of the 2nd International
Workshop on Campylobacter infections,
pp 160. Edited by Pearson, A.D., Skirrow,
M.B., Rouwe, B., Davies, J.R. and Jones, D.M.
Public Health Laboratory Service, London 1983
- Simmons, N.A. Isolation of Campylobacters
Br. Med. J. 1977/2, 707, 1977
- Skirrow, M.B. Campylobacter enteritis:
a new disease
Br. Med. J. 1977/2, 9 - 11, 1977
- Skirrow, M.B. An outbreak of presumptive food borne
Fidde, R.G. Campylobacter enteritis
Jones, D.M. J. Infect. 3, 234 - 236, 1981
- Skirrow, M.B. "1001" campylobacters: cultural
Benjamin, J. characteristics of international campylo-
bacters from man and animals
J. Hyg. Camb. 85, 427 - 442, 1980a
- Skirrow, M.B. Differentiation of enteropathogenic
Benjamin, J. campylobacter
J. Clin. Path. 33, 1122, 1980b

- Skirrow, M.B.
Benjamin, J.
The classification of 'thermophilic' campylobacters and their distribution in man and domestic animals.
In: "Campylobacter: Epidemiology, Pathogenesis and Biochemistry" (ed. D.G. Newell), 40 - 44, 1982, Lancaster: MTP - Press
- Smeltzer, T.I.
Isolation of Campylobacter jejuni from poultry carcasses
Austr. Vet. Journal 57, 511 - 512, 1981
- Snibert, R.M.
Family Spirillaceae, Genus II Campylobacter.
In: Bergey's Manual, Determinative Bacteriology, 8 th Ed., 207 - 212, 1974
Baltimore: Williams and Wilkens
- Snibert, R.M.
Genus Campylobacter Sebald and Véron 1963
In: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Volume 1, 11 - 118, 1984
Baltimore: Williams und Wilkens
- Smith, T.
Spirilla associated with disease of the fetal membranes in cattle (infections abortion)
J. exp. Med. 28, 701 - 719, 1918
z.n.: Doyle (1918)
- Smith, T.
Taylor, M.S.
Morphologie and biology of Vibrio fetus
J. Exp. Med. 30, 299 - 311, 1919
z.n.: Doyle (1981)
- Smith, T.
Orcutt, M.
Vibrios from calves and their serological relation to Vibrio fetus
J. exp. Med. 45, 391, 1927

- Smith II, M.V.
Muldon, P.J.
Campylobacter fetus subspecies jejuni
(Vibrio fetus) from commercially processed
poultry
App. Microbiol. 27, 995 - 996, 1974
- Smitherman, R.E.
Genigeorgis, C.A.
Farver, J.B.
Preliminary observations on the occurrence
of Campylobacter jejuni at four California
chicken ranches
J. Food. Prot. 47, 293 - 298, 1984
- Stern, N.J.
Green, S.S.
Thaker, N.
Kront, D.J.
Chiv, J.
Recovery of Campylobacter jejuni from fresh
and frozen meat and poultry collected at
slaughter
J. Food. Prot. 47, 372 - 374, 1984
- Sticht - Groh, V.
Rohland, I.
Bakterien der Gattung Campylobacter als
Ursache von Enteritis-Erkrankungen
Dtsch. Med. Wschr. 104, 1375, 1979
- Sticht - Groh, V.
Campylobacter in healthy slaughter pigs:
A possible source of infection for man
Vet. Rec. 110, 104 - 106, 1982
- Teufel, P.
Campylobacter fetus ss. jejuni - Ausschei-
dungsraten beim Schwein und Überleben in
Leitungswasser und Hackfleisch
Fleischwirtsch. 62, 1344 - 1345, 1982
- Véron, M.
Chatelain, R.
Taxonomic study of the genus Campylobacter
Sebald and Véron and designation of the
neotype strain for the type species,
Campylobacter fetus (Smith and Taylor)
Sebald and Véron
Int. J. Syst. Bacteriol. 23, 122 - 134

- Vinzent, R.
Dumas, J.
Picard, N.
Septicemie grave au cours de la grossesse,
due a un vibron
Bull. Acad. Nat. Med. 131, 90 - 93, 1947
z.n.: Doyle (1981)
- Wang, W. -L.L.
Wilson, N.A.
Reller, L.B.
Blaser, M.J.
Selektive methods for isolation of campylo-
bacter fetus subsp. jejuni
Current Chemotherapy and Infections Disease
Proceeding of the 11 th CC and the 19 th ICAAC
American Society of Microbiology, 1980
- Weber, A.
Campylobacter jejuni - ein "neuer" zu beach-
tender Krankheitserreger
Fortschr. Med. 33, 1486 - 1490, 1982
- Weber, A.
Bergmann, L.
Bauer, V.
Nachweis von Campylobacter jejuni in Kot-
proben von Kälbern mit und ohne Enteritiden
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 97, 10 - 13, 1984
- Weber, A.
Lembke, C.
Schäfer, R.
Zur Antibiotikaempfindlichkeit von Campylo-
bacter jejuni und Campylobacter coli, iso-
liert aus Kotproben von Schlachtschweinen
Der prakt. Tierarzt 11, 995 - 998, 1984
- Welkos, S.L.
Experimental gastroenteritis in newly
hatched chicks infected with Campylobacter jejuni
J. Med. Microbiol. 18, 233 - 248, 1984

- | | |
|-------------------|--|
| Wempe, J.M. | Prevalence of Campylobacter jejuni in |
| Genigeorgis, C.A. | 2 Californian chicken processing plants |
| Farver, T.B. | Appl. Environ. Microb. <u>45</u> , 335 - 359, 1983 |
| Yusufu, H. | |
| Wiedemann, H. | Direkte Immunofluoreszenz zum Nachweis der
Aeromonas - salmonicida - Infektionen bei
Süßwasserfischen
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. <u>94</u> , 153 - 155,
1981 |
| Wizigmann, G. | Direct fluorescent antibody technique for
diagnosis of IPN Virus Infections
Bull. Eur. Ass. Fish Pathol. <u>4</u> , 81, 1984 |
| Yanagisawa, S. | Large outbreak of Campylobacter enteritis
among schoolchildren
Lancet 1980/2, 153, 1980 |

Herrn Professor Dr. P. Dorn danke ich für die Überlassung
des Themas und für die Durchsicht der Arbeit.

Den Mitarbeitern des Tiergesundheitsdienstes Bayern danke ich
für die jederzeit gewährte Unterstützung bei der Durchführung
der Arbeit.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. P. Krabich für die stets
freundliche Unterstützung und Beratung.

Lebenslauf

Name: Margret Altmeyer

geb.: 06.07.1957 in Saarlouis / Saarland

Eltern: Leo Altmeyer, Kaufmann
Gerda Altmeyer, geb. Niederswetzki

Schulbesuch: von 1964 - 1967 Volksschule in Lebach / Saar
von 1967 - 1972 Internat "St. Angela" in
Königstein / Taunus
von 1972 - 1977 Marienschule in Saarbrücken

Abitur: 1977

Studium der
Tiermedizin: von WS 1978/79 bis WS 1983/84

Tierärztliche
Prüfung: Februar 1984

Approbation: 12. April 1984

Durchführung
vorliegender
Arbeit: ab März 1984

